

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI ETIL ASETAT DAN n-  
HEKSANA BUAH LERAK (*Sapindus rarak*) HASIL EKSTRAKSI  
SONIKASI TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia  
coli***

**SKRIPSI**

**oleh:  
HAIFA MITALMA HAMIZAH  
NIM. 19630043**



**PROGRAM STUDI KIMIA  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM  
MALANG  
2023**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI ETIL ASETAT DAN n-  
HEKSANA BUAH LERAK (*Sapindus rarak*) HASIL EKSTRAKSI  
SONIKASI TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia  
coli***

**SKRIPSI**

oleh:  
**HAIFA MITALMA HAMIZAH  
NIM. 19630043**

**Diajukan Kepada:  
Fakultas Sains dan Teknologi  
Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang  
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam  
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)**

**PROGRAM STUDI KIMIA  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM  
MALANG  
2023**

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI ETIL ASETAT DAN n-HEKSANA BUAH LERAK (*Sapindus rarak*) HASIL EKSTRAKSI SONIKASI TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia coli***

**SKRIPSI**

oleh:  
**HAIFA MITALMA HAMIZAH**  
NIM. 19630043

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji  
Tanggal: 14 Juni 2023

**Pembimbing I**



**Dr. Tri Kustono Adi, M.Sc**  
NIP. 19710311 200312 1 002

**Pembimbing II**



**A. Ghanaim Fasya, M.Si**  
NIP. 19820616 200604 1 002

Mengetahui,  
Ketua Program Studi Kimia



**Rachmayati Ningsih, M.Si**  
NIP. 19810811 200801 2 010

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI ETIL ASETAT DAN n-HEKSANA BUAH LERAK (*Sapindus rarak*) HASIL EKSTRAKSI SONIKASI TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia coli***

**SKRIPSI**

oleh:  
**HAIFA MITALMA HAMIZAH**  
NIM. 19630043

**Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)  
Tanggal: 21 Juni 2023**

**Penguji Utama : Dr. Anik Maunatin, S.T., M.P**  
NIDT. 1976010520180201 2 248

(.....)

**Ketua Penguji : Ahmad Hanapi, M.Sc**  
NIDT. 1985122520160801 1 069

(.....)

**Sekretaris Penguji : Dr. Tri Kustono Adi, M.Sc**  
: NIP. 19710311 200312 1 002

(.....)

**Anggota Penguji : A. Ghanaim Fasya, M.Si**  
NIP. 19820616 200604 1 002

(.....)

**Mengetahui,  
Ketua Program Studi Kimia**

  
**Rachmawati Ningsih, M.Si**  
NIP. 19810811 200801 2 010

## PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Haifa Mitalma Hamizah

NIM : 19630043

Program Studi : Kimia

Fakultas : Sains dan Teknologi

Judul Penelitian : "UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI ETIL  
ASETAT DAN N-HEKSANA BUAH LERAK (*Sapindus  
Rarak*) HASIL EKSTRAKSI SONIKASI TERHADAP  
BAKTERI *Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia coli*"

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa skripsi ini merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilan data, tulisan, atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber kutipan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia mempertanggungjawabkannya sesuai peraturan yang berlaku.

Malang, 13 Juni 2023

Yang membuat pernyataan



Haifa Mitalma Hamizah

NIM. 19630043

## **MOTTO**

**“...Aku menyerahkan urusanku kepada Allah...”  
Q.S. Ghafir [40]: 44**

**“Berjalan tak seperti rencana adalah jalan yang sudah biasa,  
jalan satu-satunya adalah jalani sebaik yang kau bisa”**

## HALAMAN PERSEMBAHAN

*Alhamdulillah* rabbil 'alamin,

dengan mengucapkan syukur kepada Allah Swt. saya dapat menyelesaikan tugas akhir yang masih jauh dari kata sempurna ini dengan baik. Saya persembahkan karya ini kepada:

Kedua orangtua yang sangat saya cintai, Ibu Romelah dan Ayah Musnaim yang tidak pernah lelah memanjatkan do'a, memberikan segala jenis dukungan, dan kasih sayang yang tak terhingga hingga saya dapat menyelesaikan skripsi ini. Semoga Allah Swt. membalas semua kebaikan kalian, *aamiin*. Adik saya Damia Hanani Zahidah sebagai *mood booster* terbaik dan keluarga yang sangat *support* saya, terimakasih.

Dosen pembimbing, Bapak Dr. Tri Kustono Adi, M.Sc dan Bapak A. Ghanaim Fasya M.Si yang telah banyak meluangkan waktu, berbagi ilmu, memberi bimbingan dan motivasi hingga saya dapat menyelesaikan tugas akhir ini dengan baik. Dosen penguji Ibu Dr. Anik Maunatin, M.P dan Bapak Ahmad Hanapi, M.Sc yang memberi arahan dan masukan yang sangat membangun dalam penulisan tugas akhir ini. Ibu Rachmawati Ningsih, M.Si selaku dosen wali yang telah memberikan dorongan dan motivasi. Serta Bapak Ibu Dosen dan laboran yang telah membantu. Semoga kebaikan Bapak Ibu senantiasa dibalas oleh Allah Swt. *aamiin*

Sahabat-sahabat di perkuliahan saya Widi Artha dan Istighfarin Meilidya yang telah menemani dari awal perkuliahan hingga akhir, membantu, memberi saran dan mendengarkan keluh kesah saya. Untuk Sofia, Friska, Natasya, dan Idderena yang telah menjadi tempat curhat dan siap sedia memberikan bantuan. Selain itu, teman-teman angkatan 2019 dan orang-orang baik terima kasih untuk setiap do'a baik, motivasi dan bantuannya hingga detik ini. Semoga kita semua diberi kemudahan untuk mencapai apa yang kita harapkan, *aamiin*.

Terakhir, untuk diri saya sendiri Haifa terima kasih telah berjuang melewati banyak hal untuk mencapai titik ini dan semoga kedepannya lebih baik lagi.

## KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi dengan judul **“Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Etil Asetat Dan n-Heksana Buah Lerak (*Sapindus Rarak*) Hasil Ekstraksi Sonikasi Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*”**. Selawat serta salam semoga tercurahkan kepada Nabi Muhammad saw yang telah menerangi dunia dengan cahaya iman dan islam.

Penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada pihak-pihak yang membantu proses penyusunan proposal ini. Ucapan terima kasih ini, penulis sampaikan kepada:

1. Bapak Prof. Dr H. M. Zainuddin, MA, selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Ibu Sri Harini, M.Si, selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Ibu Rachmawati Ningsih, M.Si. selaku Ketua Prodi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Bapak Dr. Tri Kustono Adi, M.Si dan Bapak A. Ghanaim Fasya, M.Si, selaku dosen pembimbing kimia dan agama.
5. Seluruh Dosen Program Studi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

Penulis menyadari bahwa masih terdapat kekurangan pada penulisan skripsi ini. Oleh karena itu, penulis sangat terbuka dengan saran dan kritik yang bersifat membangun dari berbagai pihak agar penulisan skripsi ini dapat lebih baik lagi. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi kita semua dan menjadi informasi yang berguna dalam ilmu pengetahuan, aamiin.

Malang, 14 Juni 2023

Penulis

## DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL .....	i
HALAMAN PENGESAHAN .....	ii
HALAMAN PERSETUJUAN .....	iii
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN .....	iv
MOTTO .....	v
HALAMAN PERSEMBAHAN .....	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL .....	x
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN .....	xii
ABSTRAK .....	xiii
ABSTRACT.....	xiv
مستخلص البحث.....	xv
<b>BAB I PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.1 Rumusan Masalah .....	4
3.2 Tujuan Penelitian.....	4
3.3 Batasan Masalah.....	4
3.4 Manfaat.....	5
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>6</b>
2.1 Buah Lerak ( <i>Sapindus rarak</i> ) .....	6
2.2 Kandungan Buah Lerak .....	7
2.3 <i>Staphylococcus aureus</i> .....	9
2.4 <i>Escherichia coli</i> .....	10
2.5 Ekstraksi Sonikasi .....	11
2.6 Hidrolisis dan Partisi .....	12
2.7 Uji Fitokimia .....	13
2.8 Identifikasi Senyawa Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis.....	19
2.9 Identifikasi Senyawa Menggunakan FTIR.....	20
2.8 Uji Difusi Agar .....	20
2.9 ANOVA.....	20
<b>BAB III METODE PENELITIAN .....</b>	<b>23</b>
3.1 Waktu dan Tempat Pelaksanaan.....	23
3.2 Alat dan Bahan .....	23
3.2.1 Alat.....	23
3.2.2 Bahan .....	23
3.3 Rancangan Penelitian .....	24
3.4 Tahapan Kerja .....	25
3.5 Cara Kerja.....	25
3.5.1 Preparasi Buah <i>Sapindus rarak</i> .....	25
3.5.2 Ekstraksi Sonikasi .....	26
3.5.3 Hidrolisis dan Partisi.....	26
3.5.4 Uji Fitokimia .....	27
3.5.4.1 Uji Alkaloid.....	27

3.5.4.2 Uji Fenol.....	27
3.5.4.3 Uji Saponin.....	28
3.5.4.4 Uji Flavonoid.....	28
3.5.4.5 Uji Tanin .....	28
3.5.4.6 Uji Steroid/Triterpenoid .....	28
3.5.5 Identifikasi Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis .....	29
3.5.6 Identifikasi Menggunakan FTIR.....	29
3.5.7 Uji Aktivitas Antibakteri.....	29
3.5.7.1 Sterilisasi Alat.....	29
3.5.7.2 Pembuatan Media .....	30
3.5.7.3 Peremajaan Bakteri.....	30
3.5.7.4 Pembuatan Inokulum Bakteri <i>S. aureus</i> dan <i>E. coli</i> .....	31
3.5.7.5 Persiapan Sampel Uji.....	31
3.5.7.6 Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol, Fraksi Etil Asetat, dan Fraksi n-Heksana Terhadap <i>Escherichia coli</i> dan <i>Staphylococcus aureus</i> .....	31
3.5.6 Analisis Data.....	32
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>33</b>
4.1 Ekstraksi Buah Lerak ( <i>Sapindus rarak</i> ) .....	33
4.2 Hidrolisis dan Partisi Ekstrak Etanol Buah Lerak ( <i>Sapindus rarak</i> ).....	34
4.3 Uji Fitokimia Buah Lerak ( <i>Sapindus rarak</i> ) .....	36
4.4 Identifikasi Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis .....	42
4.5 Identifikasi Menggunakan FTIR .....	45
4.6 Uji Aktivitas Antibakteri Buah Lerak ( <i>Sapindus rarak</i> ).....	48
4.7 Prespektif Pemanfaatan Buah Lerak dalam Islam.....	57
<b>BAB V PENUTUP.....</b>	<b>61</b>
5.1 Kesimpulan.....	61
5.2 Saran .....	61
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>62</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>76</b>

## DAFTAR TABEL

Tabel 3.1 Rancangan penelitian .....	24
Tabel 4.1 Rendemen dan warna hasil partisi buah lerak.....	35
Tabel 4.2 Hasil Uji Fitokimia Ekstrak/Fraksi Buah Lerak .....	37
Tabel 4.3 Hasil Identifikasi Senyawa Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis .	42
Tabel 4.4 Hasil Identifikasi Senyawa Menggunakan FTIR .....	46
Tabel 4.5 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri terhadap Bakteri <i>Escherichia coli</i> .....	49
Tabel 4.6 Hasil Uji BNJ variasi pelarut pada bakteri <i>Escherichia coli</i> .....	50
Tabel 4.7 Hasil Uji BNJ variasi konsentrasi pada bakteri <i>Escherichia coli</i> .....	50
Tabel 4.8 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri terhadap Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> .....	53
Tabel 4.7 Hasil Uji BNJ variasi pelarut pada bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> .....	54
Tabel 4.7 Hasil Uji BNJ variasi konsentrasi pada bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	54

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Buah lerak ( <i>Sapindus rarak</i> ).....	6
Gambar 2.2 <i>Staphylococcus aureus</i> .....	10
Gambar 2.3 <i>Escherichia coli</i> .....	11
Gambar 2.4 Perkiraan Reaksi Senyawa Alkaloid dengan Pereaksi Dragendroff .	14
Gambar 2.5 Perkiraan Reaksi Senyawa Alkaloid dengan Pereaksi Mayer.....	15
Gambar 2.6 Perkiraan Reaksi Senyawa Flavonoid dengan Mg dan HCl .....	16
Gambar 2.7 Perkiraan Reaksi Senyawa Fenol dengan Pereaksi FeCl <sub>3</sub> .....	17
Gambar 2.8 Perkiraan Reaksi Senyawa Tanin dengan Pereaksi FeCl <sub>3</sub> .....	18
Gambar 2.9 Perkiraan Reaksi Hidrolisis Senyawa Saponin dengan H <sub>2</sub> O.....	18
Gambar 2.10 Perkiraan Reaksi Senyawa Triterpenoid dengan reagen Liebermann-Burchard.....	19
Gambar 4.1 Ekstrak Etanol Buah Lerak .....	33
Gambar 4.2 Reaksi Hidrolisis Ekstrak Kasar.....	34
Gambar 4.3 Reaksi Netralisasi Asam.....	35
Gambar 4.4 a) Fraksi Etil Asetat, b) Fraksi n-Heksana .....	33
Gambar 4.5 Perkiraan Reaksi Senyawa Alkaloid dengan Pereaksi Dragendroff .	37
Gambar 4.6 Perkiraan Reaksi Senyawa Alkaloid dengan Pereaksi Mayer.....	38
Gambar 4.7 Perkiraan Reaksi Senyawa Flavonoid dengan Mg dan HCl .....	38
Gambar 4.8 Perkiraan Reaksi Senyawa Fenol dengan Pereaksi FeCl <sub>3</sub> .....	39
Gambar 4.9 Perkiraan Reaksi Senyawa Tanin dengan Pereaksi FeCl <sub>3</sub> .....	39
Gambar 4.10 Perkiraan Reaksi Hidrolisis Senyawa Saponin dengan H <sub>2</sub> O.....	40
Gambar 4.11 Perkiraan Reaksi Senyawa Triterpenoid dengan reagen Liebermann-Burchard.....	42
Gambar 4.12 Spektra Hasil Spektrofotometer UV-Vis.....	42
Gambar 4.13 Hasil Spektra FTIR.....	45
Gambar 4.14 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap <i>E. coli</i> a)Ekstrak Etanol; b)Fraksi Etil Asetat; c)Fraksi n-Heksana; d)Kontrol positif dan Negatif; e)Kontrol Pelarut .....	50
Gambar 4.15 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol <i>S. aureus</i> a)Ekstrak Etanol; b)Fraksi Etil Asetat; c)Fraksi n-Heksana; d)Kontrol positif dan Negatif; e)Kontrol Pelarut.....	54

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Rancangan Penelitian.....	77
Lampiran 2 Diagram Alir .....	78
Lampiran 3 Perhitungan .....	86
Lampiran 3 Jadwal Kegiatan Penelitian .....	89
Lampiran 5 Data Pengamatan dan Perhitungan .....	90
Lampiran 6 Dokumentasi Penelitian .....	100

## ABSTRAK

Hamizah, H.M. 2023. **Uji Antibakteri Fraksi Etil Asetat Dan n-Heksana Buah Lerak (*Sapindus rarak*) Hasil Ekstraksi Sonikasi Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.** Proposal Penelitian. Program Studi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Dosen Pembimbing I: Dr. Tri Kustono Adi, M.Sc; Dosen Pembimbing II: A. Ghanaim Fasya, M.Si

---

**Kata kunci:** antibakteri, buah lerak, sonikasi, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*

Tumbuhan lerak (*Sapindus rarak*) merupakan salah satu tumbuhan yang memiliki potensi sebagai antibakteri khususnya bagian buahnya terhadap bakteri patogen yang umum menyerang manusia. Penelitian ini dilakukan pada buah lerak dari Malang untuk mengetahui golongan metabolit sekunder dan aktivitas antibakteri ekstrak etanol, fraksi etil asetat dan n-heksana buah lerak terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

Buah lerak diekstraksi sonikasi menggunakan pelarut etanol. Ekstrak dihidrolisis kemudian dipartisi menggunakan etil asetat dan n-heksana. Uji fitokimia pada ekstrak dan fraksi meliputi saponin, alkaloid, flavonoid, tanin, fenol, dan steroid/triterpenoid. Uji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi agar dengan beberapa konsentrasi ekstrak/fraksi terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Analisis data diuji dengan ANOVA dilanjutkan dengan uji BNJ.

Analisis data menunjukkan bahwa ekstrak etanol dan fraksi etil asetat pada konsentrasi ekstrak A (larutan induk= 1 g ekstrak dilarutkan 1 mL DMSO) dan B (0,5 mL larutan induk ditambahkan 0,5 mL DMSO) berpengaruh nyata terhadap hasil zona hambat pada *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Zona hambat tertinggi pada bakteri *E. coli* pada ekstrak etanol, fraksi etil asetat, dan fraksi n-heksana adalah 3,18 ;3,95 mm; dan 4,68 mm. Zona hambat tertinggi pada bakteri *S. aureus* pada ekstrak etanol, fraksi etil asetat dan fraksi n-heksana sebesar 3,25; 3,45 mm; dan 3,43 mm. Hasil uji fitokimia golongan senyawa metabolit sekunder pada ekstrak etanol adalah alkaloid, fenol, tanin, flavonoid, saponin, dan triterpenoid. Pada fraksi etil asetat terdapat golongan senyawa fenol, flavonoid, dan triterpenoid, serta pada fraksi n-heksana terdapat golongan senyawa fenol, tanin, dan triterpenoid. Data spektrofotometri UV-Vis dan FTIR mendukung hasil uji fitokimia tersebut.

## ABSTRACT

Hamizah, H.M. 2023. **Antibacterial Test of Ethyl Acetate and n-Hexane Fractions of Lerak Fruit (*Sapindus rarak*) Result of Sonication Extraction Against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* Bacteria.** Thesis. Chemistry Study Program, Faculty of Science and Technology, The State Islamic University of Maulana Malik Ibrahim Malang. Supervisor: Dr. Tri Kustono Adi, M.Sc; Supervisor II: A. Ghanaim Fasya, M.Si

---

**Keywords:** antibacterial, soap berries, sonication, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*

The lerak plant (*Sapindus rarak*) holds promising potential as an antibacterial agent, particularly in its fruit parts, to combat pathogenic bacteria commonly affecting humans. This study aimed to investigate the secondary metabolites and antibacterial activity of ethanol extract, ethyl acetate fraction, and n-hexane of lerak fruit against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacteria.

Sonication extraction using ethanol solvent was employed to extract lerak fruit. The resulting extract was hydrolyzed and partitioned using ethyl acetate and n-hexane. Phytochemical tests were conducted on the extracts and fractions, including saponins, alkaloids, flavonoids, tannins, phenols, and steroids/triterpenoids. Antibacterial activity was assessed using the agar diffusion method, with certain extract/fraction concentrations targeting *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. Data analysis was performed using ANOVA followed by the Tukey's honestly significance difference (HSD) test.

The analysis revealed that the ethanol extract and ethyl acetate fraction, particularly at extract concentrations A (1 g extract dissolved in 1 mL DMSO) and B (0.5 mL mother liquor added to 0.5 mL DMSO), significantly influenced the inhibition zone results for both *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. The highest inhibition zones against *E. coli* were observed in the ethanol extract (3.18 mm), ethyl acetate fraction (3.95 mm), and n-hexane fraction (4.68 mm). The highest inhibition zone against *S. aureus* was found in the ethanol extract (3.25 mm), ethyl acetate fraction (3.45 mm), and n-hexane fraction (3.43 mm). Phytochemical tests of the ethanol extract revealed the presence of alkaloids, phenols, tannins, flavonoids, saponins, and triterpenoids. The ethyl acetate fraction contained phenolic compounds, flavonoids, and triterpenoids, while the n-hexane fraction contained phenolic compounds, tannins, and triterpenoids. The results of UV-Vis and FTIR spectrophotometry further supported the findings of these phytochemical tests.

## مستخلص البحث

حميزة ، ح. م. ٢٠٢٢. اختبار مضادة البكتيريا لجزء خلات الإيثيل و ن-هكسان لفاكهة صابونية راراك (*Sapindus rarak*) نتائج استخراج الصوتنة على بكتيريا المكورات العنقودية الذهبية وبكتيريا الإشريكية القولونية. البحث الجامعي. قسم الكيمياء، كلية العلوم والتكنولوجيا بجامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج. المشرف الأول: د. تري كوستونو أدي، الماجستير. المشرف الثاني: أحمد غنائم فشا، الماجستير.

الكلمات الرئيسية: مضادة البكتيريا، فاكهة راراك، صوتنة، المكورات العنقودية الذهبية، الإشريكية القولونية نبات صابونية راراك (*Sapindus rarak*) هي أحد النباتات التي لديها القدرة كمضادة البكتيريا، وخاصة جزء الفاكهة على البكتيريا المسببة للأمراض التي تهاجم البشر عادة. أجري هذا البحث على فاكهة صابونية راراك من مالانج لتحديد فئة المستقبلات الثانوية ونشاط مضادة البكتيريا لمستخرجة الإيثانول وجزء أسيتات الإيثيل و ن-هكسان لفاكهة صابونية راراك على بكتيريا المكورات العنقودية الذهبية وبكتيريا الإشريكية القولونية.

تم استخراج فاكهة صابونية راراك صوتنة باستخدام مذيب الإيثانول. ثم يتم تقسيم المستخرجة المتحللة باستخدام أسيتات الإيثيل و ن-هكسان. تشمل الاختبارات الكيميائية النباتية على المستخرجات والأجزاء صابونين وقلويات وفلافونويد والتين والفينولات والمنشطات أو الفلافونويد والثلاثي. اختبار نشاط مضادة البكتيريا باستخدام طريقة انتشار الآجار بعض بتركيزات مستخرجة أو جزء على بكتيريا المكورات العنقودية الذهبية وبكتيريا الإشريكية القولونية. تم اختبار تحليل البيانات باستخدام *ANOVA* متبوعا باختبار *BNJ*

أظهر تحليل البيانات أن تظهر في جميلات في تركيزات المستخلصات / الكسر بنسبة ٥٠ ٪ و ١٠٠ ٪ كان لها تأثير معنوي على نتائج منطقة التثبيط على الإشريكية القولونية والمكورات تأثير معنوية على الإشريكية القول. الحلقة رقم ٤.٦٨ مم. بالإضافة إلى ذلك ، جزء أسيتات الإيثيل بتركيز ١٠٠ ٪ أعلى منطقة تثبيط ضد المكورات الذهبية بمكودا ر ٣. ٤٥ مم. نتائج الاختبار الكيميائي للمركبات البحرية في المرحلة الثانوية في مستخلصات الإيثانول. يوجد في جزء أسيتات الإيثيل مجموعات من مركبات الفينول والفلافونويد وترايتيرينويد ، وفي جزء ن-هكسانا توجد مجموعات مركب ات الفينول والتانين وترايتيرينويد. بعد عمل بيانات القياس الطيفي ونتائج هذه الاختبارات الكيميائية

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Indonesia memiliki kekayaan hayati yang dapat dimanfaatkan dalam berbagai bidang baik farmasi, pangan, dan kosmetik. Tumbuhan menghasilkan metabolit sekunder yang berkhasiat sebagai senyawa antibakteri, pendukung proses pertumbuhan, atau merespon serangan dari luar (Carson, *et al.*, 2002). Senyawa metabolit sekunder terdistribusi dalam seluruh bagian tumbuhan salah satunya buah.

Allah SWT. berfirman dalam surah an Nahl (16) Ayat 11:

يُنْبِتُ لَكُمْ بِهِ الزَّرْعَ وَالرَّيْتُونَ وَالنَّخِيلَ وَالْأَعْنَابَ وَمِنْ كُلِّ الثَّمَرَاتِ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً  
لِّقَوْمٍ يَتَفَكَّرُونَ ﴿١١﴾

*Artinya: “Dengan (air hujan) itu Dia menumbuhkan untukmu tumbuh-tumbuhan, zaitun, kurma, anggur, dan segala macam buah-buahan. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat tanda (kebesaran Allah) bagi orang yang berpikir”.*

Shihab (2017) menjelaskan ayat tersebut menyebutkan beberapa buah populer dan bermanfaat bagi masyarakat Arab. Surah an Nahl ayat 11 menjelaskan Allah SWT menumbuhkan tanaman yang cepat layu hingga yang berusia panjang serta yang memiliki banyak manfaat. Allah menumbuhkan zaitun sebagai pohon yang paling panjang usianya, kurma yang mudah dipetik, dimakan mentah ataupun matang dan bernutrisi tinggi, serta anggur sebagai makanan halal namun dapat menjadi minuman haram, demikian juga berbagai jenis buah-buahan lain yang memiliki peranan penting selain yang telah disebutkan. Sesungguhnya hal tersebut merupakan tanda-tanda kekuasaan Allah Yang Maha Esa lagi Maha Kuasa. Sebagai

Khalifah di bumi, manusia diminta berpikir mengenai rahasia-rahasia yang dalam ciptaan-Nya khususnya mempelajari apa yang ada di dalam buah-buahan tersebut serta manfaatnya. Salah satunya yaitu dengan mengkaji buah lokal yaitu buah lerak.

Lerak (*Sapindus rarak*) merupakan tanaman liar yang banyak ditemukan di Pulau Jawa. (Heyne, 1950). Buah lerak dimanfaatkan untuk membunuh cacing, mencuci pakaian atau perhiasan logam mulia (Syamsuhidayat dan Hutapea, 1991). Pada bidang kesehatan lerak memiliki aktivitas farmakologi yang dipengaruhi oleh kandungan senyawa metabolit sekunder di dalamnya dimana Fajriaty, *et al* (2017) menjelaskan bahwa uji fitokimia ekstrak etanol buah lerak mengandung senyawa alkaloid, saponin, tannin, kuinon, steroid/terpenoid, dan fenol.

Ekstraksi merupakan proses penarikan senyawa kimia yang larut dari zat yang tidak larut dengan suatu pelarut yang cair (Tambun, *et al.*, 2016). Ada beberapa jenis metode ekstraksi, salah satunya sonikasi menggunakan gelombang ultrasonik dengan frekuensi yang lebih besar dari 16-20 KHz (Suslick, 1988). Sonikasi menghasilkan hasil yang lebih baik dalam waktu yang sangat singkat secara ekonomis. Fenomena sonikasi dengan ultrasonik menghasilkan hasil ekstraksi senyawa bioaktif yang lebih besar (Moghimpour, 2015). Aryanti (2021) menjelaskan ekstraksi sonikasi buah *S. rarak* dengan waktu 40 menit, pelarut 10 mL/g dan suhu 30°C menghasilkan senyawa saponin yang lebih besar yaitu 27,87 mg daripada ekstraksi dengan maserasi dengan waktu 120 menit, pelarut 50 mL/g dan suhu 50°C dengan hasil 23,74 mg. Ekstraksi buah lerak dengan metode sonikasi jarang dilaporkan sehingga penelitian ini menggunakan metode sonikasi dengan pelarut etanol karena merupakan pelarut universal dengan gugus C<sub>2</sub>H<sub>5</sub> yang

nonpolar dan -OH polar sehingga dapat menarik komponen kimia bersifat polar ataupun nonpolar, aman dan rendah toksisitas daripada metanol (Sanjaya, 2021).

Sejauh ini banyak pendekatan untuk menunjukkan aktivitas antibakteri tanaman. Ekstraksi pelarut telah menjadi metode yang paling banyak digunakan tetapi penelitian terbaru menunjukkan peningkatan aktivitas dengan fraksinasi ekstrak kasar (Etame, 2018). Pemisahan senyawa metabolit sekunder diperoleh melalui proses hidrolisis untuk mempercepat pemutusan ikatan glikosida dengan katalis asam kemudian hasilnya dipartisi agar didapatkan metabolit sekunder yang kepolarannya seragam dengan pelarut (Fasya, *et al.*, 2016). Bentrud (2017) melakukan hidrolisis pada sampel biji kurma dengan HCl 2N kemudian dipartisi dengan dietil eter dan didapatkan beberapa senyawa fenolik dan asam lemak bebas yang terlibat sebagai agen antimikroba dimana aktivitas antibakteri yang tinggi diperoleh katekol terhadap *E. coli* (25 mm); hidroksikuinon terhadap *S. aureus* (21 mm) dan *S. aureus* MRSA (21,25) mm.

Uji antibakteri ini dilakukan terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Bakteri ini menjadi pathogen bagi manusia dimana bakteri *E. coli* dapat menimbulkan diare dan bakteri *S. aureus* penyebab penyakit kulit (Dina, 2022). Widowati, *et al* (2022) telah melakukan penelitian aktivitas antibakteri ekstrak etanol buah lerak terhadap bakteri *S. aureus* zona irradikal dengan metode difusi agar didapat pada konsentrasi 100% diperoleh rata-rata zona hambat terbaik yaitu sebesar 21,10 mm yang digolongkan kuat. Selain itu, Silviani, *et al* (2014) telah melakukan uji aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat buah lerak terhadap bakteri *Enteropathogenic Escherichia coli* (EPEC) dan *Enterotoxigenic*

*Escherichia coli* (ETEC) dimana didapatkan zona hambat terbaik pada konsentrasi 100% yaitu untuk EPEC sebesar 31,2 mm dan pada ETEC sebesar 12,9 mm.

Berdasarkan penelitian Sinurat, *et al* (2018) diketahui ekstrak n-heksana daging buah lerak memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* dengan menggunakan metode difusi agar dan didapatkan zona hambat sebesar 1,1 mm, sehingga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai aktivitas antibakteri buah lerak dimana dalam sepengetahuan penulis uji aktivitas antibakteri terhadap fraksi n-heksana dan etil asetat buah lerak hasil hidrolisis dengan sampel buah lerak dari Malang belum pernah diteliti sebelumnya. Oleh karena itu pengujian ekstrak etanol, fraksi etil asetat dan n-heksana hasil hidrolisis buah lerak sebagai antibakteri hasil ekstraksi sonikasi perlu dikembangkan terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

### **1.1 Rumusan Masalah**

1. Golongan senyawa apa yang terdapat dalam ekstrak etanol, fraksi etil asetat dan n-heksana buah lerak (*Sapindus rarak*)?
2. Bagaimana kekuatan antibakteri ekstrak etanol, fraksi etil asetat dan n-heksana pada buah lerak (*Sapindus rarak*) hasil ekstraksi sonikasi?

### **1.2 Tujuan Penelitian**

1. Mengetahui golongan senyawa yang terdapat dalam ekstrak etanol, fraksi etil asetat dan n-heksana buah lerak (*Sapindus rarak*).
2. Mengetahui kekuatan antibakteri ekstrak etanol, fraksi etil asetat dan n-heksana pada buah lerak (*Sapindus rarak*) hasil sonikasi

### 1.3 Batasan Masalah

1. Buah lerak (*Sapindus rarak*) diperoleh dari daerah Malang
2. Ekstrak etanol dihidrolisis dengan HCl 2N
3. Identifikasi senyawa metabolit sekunder menggunakan uji fitokimia meliputi uji alkaloid, fenol, saponin, tannin, flavonoid, dan steroid/triterpenoid
4. Uji aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* dan *E. coli* metode difusi agar.

### 1.4 Manfaat

Manfaat dari penelitian ini adalah:

1. Memberi informasi mengenai potensi antibakteri ekstrak etanol, fraksi etil asetat dan n-heksana buah lerak (*Sapindus rarak*) hasil ekstraksi sonikasi terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli* sehingga dapat dimanfaatkan dibidang farmakologi.
2. Memberi informasi tambahan dalam upaya-upaya *mentadaburi* ayat Alquran mengenai keanekaragaman hayati.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Buah Lerak (*Sapindus rarak*)

Lerak (*S. rarak*) merupakan tanaman asal Asia Tenggara yang tumbuh baik hampir pada semua jenis tanah dan iklim, pada daerah dengan ketinggian 450-1500 m diatas permukaan laut (Afriastini, 1990). Di Sumatra dikenal dengan nama lamuran, di Jawa dengan nama lerak ataupun werak, dan di sunda dikenal dengan nama rerek (Syamsuhidayat, 1991).



Gambar 2. 1 Buah lerak (*Sapindus rarak*) (Pradigdo, 2021)

Klasifikasi tanaman lerak yaitu (Syamsuhidayat, 1991):

- Divisi : Spermatophyta
- Sub Divisi : Angiospermae
- Kelas : Dicotyledoneae
- Sub kelas : Dialypetalac
- Bangsa : Sapindales.
- Suku : Sapindaceae
- Marga : Sapindus
- Jenis : *Sapindus rarak*

Tumbuhan lerak memiliki buah bulat yang agak keras berwarna kuning kecoklatan dengan diameter  $\pm 1,5$  cm dan daging buahnya beraroma wangi. (Fatmawati, 2014). Buah lerak dimanfaatkan untuk mandi, mencuci rambut, pakaian sutra dan wol, peralatan dapur, dan memoles ornamen emas dan perak yang ternoda karena aktivitas pembersihannya yang sangat baik (Kora, 2020).

## 2.2 Kandungan Buah Lerak

Metabolit sekunder didefinisikan sebagai biomolekul yang dapat dimanfaatkan sebagai *lead compounds* pada penemuan dan pengembangan obat-obatan terbaru (Botahala, *et al.*, 2020). Tanaman lerak mengandung berbagai golongan senyawa kimia khususnya pada daging buahnya seperti alkaloid, triterpen, steroid, tanin, antraknon, fenol, flavonoid, dan minyak atsiri serta golongan sesquiterpen dan saponin (Laela, *et al.*, 2018).

Saponin merupakan glikosida dengan berat molekul besar yang tersusun atas gula yang terhubung dengan triterpen ataupun steroid aglikon (Illing *et al.*, 2017). Saponin larut pada air, metanol dan etanol. Beberapa jenis larut pelarut organik (Santosa, *et al.*, 2018). Dalam penelitian Yuliana, *et al.* (2014) didapatkan kadar saponin *S. rarak* 20% bahkan untuk ekstrak dengan pelarut 100% methanol didapatkan kadar total saponin buah lerak sebesar 44,1 %. Mekanisme kerja saponin sebagai antibakteri dengan cara mendanaturasi protein dan merusak permeabilitas membran bakteri (Sani, 2013).

Alkaloid adalah golongan metabolit sekunder yang memiliki sifat basa dengan satu ataupun lebih banyak atom nitrogen dimana berada dalam gabungan siklik. Alkaloid larut pelarut organik pada bentuk bebas atau basanya (Harborne,

1997). Menurut penelitian Turofiq (2019) buah lerak mengandung 1% senyawa alkaloid. Mekanisme kerja senyawa alkaloid sebagai antibakteri yaitu komponen alkaloid sebagai interkelator DNA menghambat enzim topoisomerase pada sel bakteri (Rijayanti, 2014).

Flavonoid merupakan senyawa metabolit sekunder yang paling banyak ditemukan didalam tanaman (Abdallah, *et al.*, 2012). Flavonoid terdiri dari satu cincin aromatik A, satu cincin aromatik B, dan cincin tengah heterosiklik mengandung oksigen. (Hess, 2012). Hasil penelitian Isrianto, *et al* (2017) dari ekstrak etanol buah lerak didapatkan kadar flavonoid sebesar 1,9% sedangkan dari ekstrak methanol didapatkan kadar flavonoid 1,06%. Mekanisme kerja flavonoid sebagai antibakteri dengan menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi dari membran selnya dan menghambat pada metabolisme energi (Rijayanti, 2014).

Tanin merupakan senyawa polifenol yang mampu membentuk kompleks dengan protein menghasilkan kopolimer yang tidak larut air (Harborne, 1996). Hasil uji skrining fitokimia oleh Isrianto, *et al* (2017) menyatakan kandungan tanin dari ekstrak etanol dan metanol lerak sebesar 1,55%. Mekanisme kerja tanin sebagai antibakteri menargetkan pada polipeptida pada dinding sel bakteri yang menyebabkan pembentukan dinding sel menjadi tidak sempurna sehingga sel bakteri lisis yang berujung kematian sel bakteri.

Fenol adalah komponen dengan satu atau lebih gugus hidroksil yang terikat pada cincin aromatik. Fenol sedikit sukar terlarut dalam air, sangat larut dalam alkohol, benzene, eter, klorofom, dan hampir semua pelarut organik. (Othmer, 1962). Mekanisme kerja fenol sebagai antibakteri dengan cara meningkatkan permeabilitas membran sitoplasma yang mengakibatkan kebocoran komponen

intraseluler dan menyebabkan koagulasi pada sitoplasma sehingga dapat terjadi lisis sel (Sufiriyanto, 2005). Chaudhary, *et al* (2019) menyatakan bahwa kandungan total fenol dalam bubuk kulit buah lerak sebesar 1,43%.

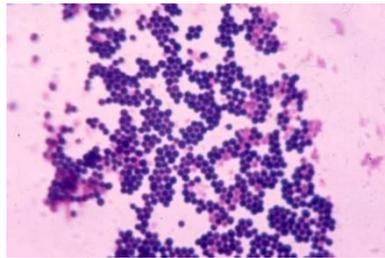
Steroid merupakan golongan senyawa triterpenoid yang memiliki kandungan berupa inti siklopentana perhidrofenantren yaitu terdiri dari tiga cincin sikloheksana dan sebuah cincin siklopentana. (S, Lalitha, *et al.* 2010). Mekanisme steroid sebagai antibakteri yaitu mengakibatkan liposom bocor juga menurunkan integritas membran serta merubah morfologi membran sel sehingga sel menjadi rapuh dan lisis (Sari *et al.*, 2017). Ekstrak etanol buah lerak salah satunya juga mengandung senyawa metabolit sekunder steroid (Fajriaty, *et al.*, 2017)

Triterpenoid adalah senyawa yang tersusun dari 6 isoprena yang diturunkan dari hidrokarbon C<sub>30</sub> asiklik yaitu skualena yang memiliki struktur siklik berupa alkohol, asam karboksilat, atau aldehid (Harborne, 1987). Mekanisme triterpenoid sebagai antibakteri dengan bereaksi bersama porin di membran luar dinding sel bakteri membentuk ikatan polimer yang kuat mengakibatkan porin rusak sehingga permeabilitas dinding sel bakteri berkurang dan sel bakteri kekurangan nutrisi sehingga bakteri terhambat atau mati (Halimah *et al*, 2019). Buah lerak juga terbukti mengandung senyawa triterpenoid (Fajriaty, *et al.*, 2017).

### **2.3 *Staphylococcus aureus***

*Staphylococcus aureus* merupakan bakteri Gram positif yang berbentuk bulat dengan diameter 0,7-1,2 mm. Bakteri ini tersusun dalam kelompok–kelompok secara acak seperti buah anggur yang termasuk bakteri fakultatif anaerob. *S. aureus* tidak dapat membentuk spora. Bakteri ini dapat tumbuh pada suhu optimum 37°C

(Jawetz, 2005). Wahyuni, *et al* (2018) menyebutkan bakteri Gram positif memiliki satu lapis dinding sel yang tipis yaitu peptidoglikan. *S. aureus* memiliki sekitar 50% peptidoglikan yang membentuk struktur tebal dan kaku, asam teikoat dan fosfat, kandungan lipida rendah, serta memiliki susunan dinding sel yang kompak (Lestari, *et al.*, 2020).



Gambar 2. 2 *Staphylococcus aureus* (Asadi, 2017)

Klasifikasi ilmiah pada bakteri genus *Staphylococcus aureus* adalah sebagai berikut (Soedarto, 2015):

Domain : Bacteria  
Kingdom : Eubacteria  
Phylum : Firmicutes  
Class : Bacilli  
Ordo : Bacillales  
Family : Staphylococcaceae  
Genus : Staphylococcus  
Species : *Staphylococcus aureus*

#### **2.4 *Escherichia coli***

*Escherichia coli* merupakan bakteri Gram negatif yang berbentuk batang pendek dengan bentuk koloni bulat dan cembung. *E. coli* memiliki panjang kurang

lebih 2  $\mu\text{m}$  dengan diameter 0,7  $\mu\text{m}$  dan lebar 0,4 – 0,7  $\mu\text{m}$  serta bersifat anaerob fakultatif (Jawetz, *et al.*, 2007). *E. coli* merupakan bakteri kokobasil bersifat motil, dan tidak dapat membentuk spora (Jawetz, *et al.*, 2008). *E. coli* hanya dapat dibunuh dengan paparan antibiotik, sinar UV, dan suhu  $>1000^{\circ}\text{C}$  (Girard, *et al.*, 2003).

Wahyuni, *et al* (2018) menyatakan dinding sel bakteri Gram negatif relatif tebal dimana terdapat lapisan membran sitoplasma, membran luar, dan lapisan tipis peptidoglikan.



Gambar 2. 3 *Escherichia coli* (Khakim, 2018)

Klasifikasi dari bakteri *Escherechia coli* adalah sebagai berikut (Jawetz, *et al.*, 2007):

Kingdom	: Prokaryotae
Divisi	: Gracilicutes
Kelas	: Scotobacteria
Ordo	: Enterobacteriales
Famili	: Enterobacteriaceae
Genus	: Escherichia
Spesies	: <i>Escherichia coli</i>

## 2.5 Ekstraksi Sonikasi

Ekstraksi merupakan proses pemindahan suatu zat terlarut tertentu dari suatu bahan dengan pelarut tertentu (Rompas, *et al.*, 2012). Menurut Khopkar

(2008) prinsip ekstraksi adalah melarutkan senyawa polar dalam pelarut polar dan senyawa non polar dalam pelarut non polar (*like dissolve like*).

Metode ekstraksi sonikasi memanfaatkan gelombang ultrasonik untuk mempercepat kontak sampel dengan pelarut sehingga perpindahan senyawa bioaktif ke pelarut lebih cepat. Sonikasi memanfaatkan energi gelombang dan terjadi proses kavitasi, yaitu pembentukan gelembung-gelembung kecil akibat transmisi gelombang ultrasonik yang membantu difusi pelarut ke dalam dinding sel tanaman (Ashley, *et al.*, 2001). Metode ultrasonik dapat mempercepat laju reaksi, meningkatkan rendemen, mempercepat waktu reaksi dan rendah energi dalam prosesnya (Mohammed, 2015). Pada penelitian Aryanti, *et al* (2020) senyawa aktif dalam *Sapindus rarak DC* dapat diekstrak menggunakan gelombang ultrasonik sehingga didapatkan rendemen tertinggi sebesar 46,0198% pada rasio padatan terhadap pelarut 1:28 g/g, konsentrasi etanol 80% dan waktu ekstraksi 20 menit.

Pemilihan pelarut perlu diperhatikan karena mempengaruhi keberhasilan dari proses ekstraksi (Simanjuntak, 1988). Etanol ( $C_2H_5OH$ ) merupakan senyawa dengan titik didih  $78,4^\circ C$  yang tidak berwarna, mudah menguap dan dapat larut dalam air (Kartika, *et al.*, 1997). Harborne (1987) menyatakan pelarut etanol merupakan salah satu jenis pelarut yang sangat baik digunakan untuk ekstraksi pendahuluan. Pelarut ini mampu mengekstrak senyawa polar sekaligus nonpolar membuat % *yield* lebih banyak. (Azis, *et al.*, 2014).

## **2.6 Hidrolisis dan Partisi**

Hidrolisis dilakukan untuk melepaskan aglikon yang terikat pada senyawa organik berbentuk glikosida. Glikosida terdiri dari aglikon yang bersifat polar, semipolar ataupun non polar dan bagian gula yang bersifat polar pada metabolit

sekunder (Gunawan, *et al.*, 2004). Pemutusan ikatan glikosida dapat dilakukan dengan cara pemanasan larutan dengan air dan sedikit asam serta asam encer sebagai katalis (Saifudin, *et al.*, 2006).

Selanjutnya dilakukan proses partisi untuk memperoleh metabolit sekunder yang memiliki kepolaran yang sama dengan pelarut yang digunakan (Fasya, 2016). Metode partisi cair-cair adalah pemisahan komponen kimia diantara dua fase pelarut yang tidak saling bercampur. Komponen kimia ini akan terdistribusi ke dalam dua fase yang sesuai dengan tingkat kepolarannya dengan perbandingan konsentrasi yang tetap (Gu, 2000).

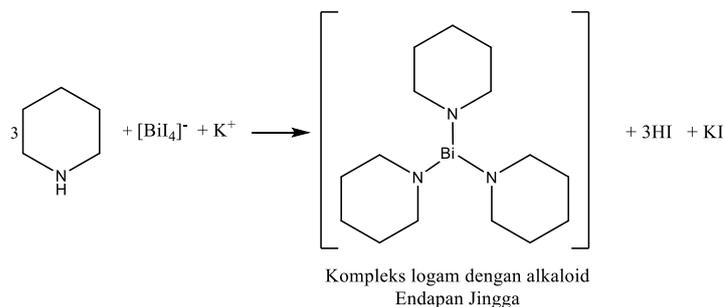
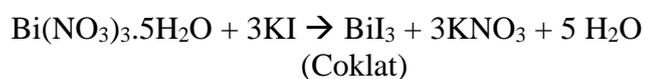
Etil asetat adalah salah satu pelarut yang baik untuk digunakan pada proses ekstraksi (Wardhani dan Sulistyani, 2012). Syafa'ah, *et al* (2019) menyatakan pada penelitian biji alpukat, pelarut etil asetat yang bersifat semi polar dapat menarik senyawa semi polar dan mampu mengekstrak senyawa fenol, terpenoid, alkaloid, aglikon dan glikosida. Heksana merupakan pelarut yang secara luas heksana digunakan sebagai pelarut yang non-polar (CAMEO, 2017). Rubiyanti, *et al* (2019) menyatakan n-heksan bersifat nonpolar akan menarik senyawa nonpolar dan dapat mengekstrak senyawa kimia seperti lilin, lipid dan minyak yang mudah menguap. Shah *et al* (2017) telah melakukan penelitian menggunakan *Sapindus mukorossi* dimana 2 Kg bubuk kering yang diekstrak menggunakan metanol kemudian 50 g difraksi dengan n-heksana, kloroform, etil asetat, dan n-butanol dimana secara berturut-turut diperoleh rendemen sebesar 18,36; 1,7; 4,992; dan 5,9 gram.

## **2.7 Uji Fitokimia**

Dalam penentuan mengenai kandungan jenis metabolit sekunder pada suatu tumbuhan dapat dilakukan uji fitokimia. Metode uji fitokimia dilakukan dengan

cara melihat perubahan warna menggunakan suatu pereaksi warna (Botahala, *et al.*, 2020). Uji tersebut digunakan dalam hal membuktikan keberadaan suatu senyawa kimia tertentu dalam tumbuhan yang berkaitan dengan kemampuan aktivitas biologisnya sehingga dapat menyokong dalam langkah-langkah fitofarmakologi (Farnsworth, 1966).

Pengujian Alkaloid dilakukan dengan reagen Dragendorff dan Mayer. Penambahan HCl sebelum dilakukan penambahan reagen dilakukan karena alkaloid memiliki sifat basa sehingga dapat diekstrak menggunakan pelarut bersifat asam (Harborne, 1996). Penambahan HCl berfungsi meningkatkan kelarutan alkaloid karena alkaloid bereaksi dengan HCl sehingga membentuk garam yang mudah larut dalam air (Harborne, 1987). Hasil positif alkaloid dengan reagen Dragendorff ditandai dengan terbentuknya endapan coklat muda hingga kuning (jingga) dimana endapan tersebut merupakan kompleks bismut-alkaloid.

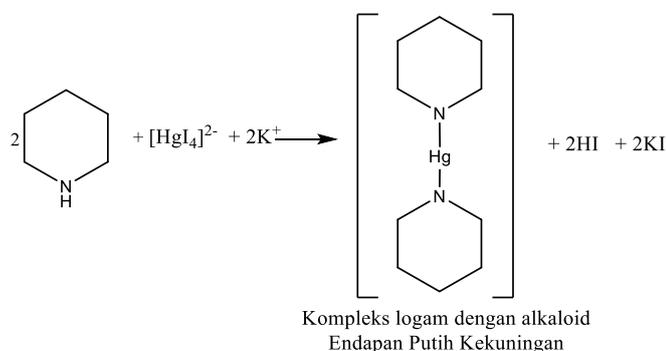
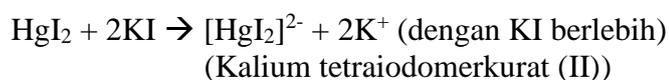
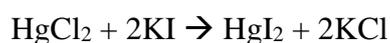


Gambar 2. 4 Perkiraan Reaksi Senyawa Alkaloid dengan Pereaksi Dragendorff (Lutfillah, 2008)

Pembuatan reagen Dragendorff dilakukan dengan cara bismut nitrat dilarutkan dalam HCl agar tidak terjadi reaksi hidrolisis karena garam-garam

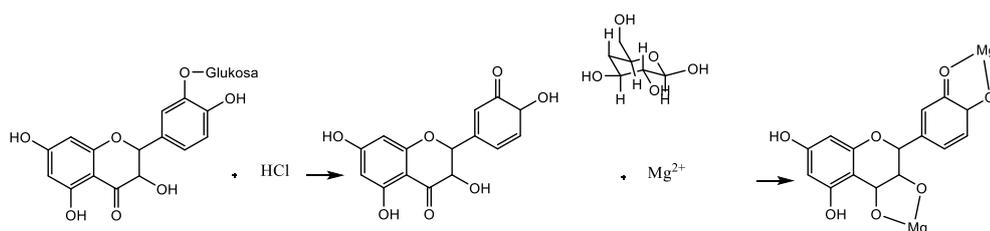
bismut mudah terhidrolisis membentuk ion bismutil ( $\text{BiO}^+$ ), sehingga agar ion  $\text{Bi}^{3+}$  tetap dalam larutan, maka perlu penambahan asam menyebabkan pergeseran kesetimbangan ke arah kiri. Ion  $\text{Bi}^{3+}$  dari bismut nitrat akan bereaksi dengan kalium iodida sehingga membentuk endapan coklat Bismut(III) iodida yang akan larut dalam kalium iodida berlebih dan membentuk kalium tetraiodobismutat (Svehla, 1985). Alkaloid mengandung atom nitrogen dengan pasangan elektron bebas (PEB) yang dapat digunakan untuk membentuk ikatan koordinasi dengan logam. Endapan terbentuk karena alkaloid bergabung dengan logam yang memiliki berat atom tinggi seperti bismuth (Sastrohamidjojo, 2001).

Pereaksi Mayer dibuat penambahan kalium iodida dalam larutan merkuri(II) klorida yang bereaksi hingga membentuk endapan berwarna merah merkuri(II) iodida. Apabila kalium iodida tersebut berlebih maka dapat terbentuk kalium tetraiodomerkurat(II) (Svehla, 1990). Nitrogen pada alkaloid akan bereaksi dengan ion logam Hg dari kalium tetraiodomerkurat (II) sehingga terbentuk kompleks alkaloid dengan logam (Rezaldi, *et al.*, 2022). Reaksi yang terjadi pada uji Mayer ditunjukkan pada gambar berikut.



Gambar 2. 5 Perkiraan Reaksi Senyawa Alkaloid dengan Pereaksi Mayer (Lutfillah, 2008)

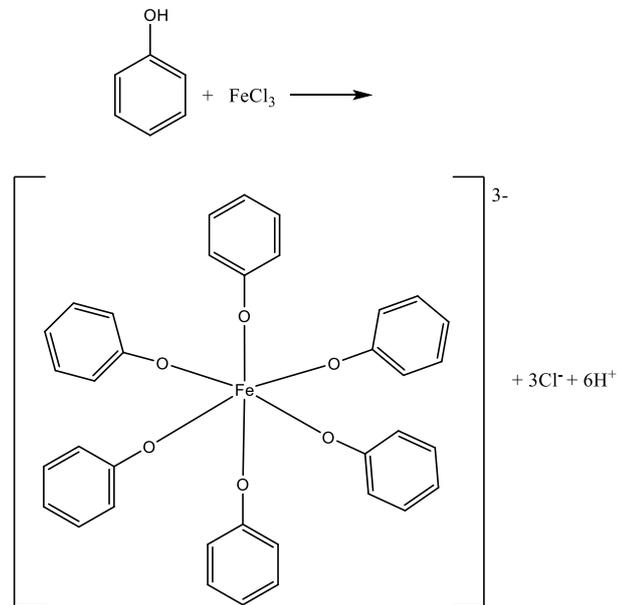
Uji golongan flavonoid dilakukan dengan penambahan etanol panas, serbuk Mg, dan HCl. Penambahan HCl pekat ini berfungsi menghidrolisis dan memutus flavonoid menjadi aglikonnya dengan cara menghidrolisis O-glikosil. O-glikosil nantinya akan tergantikan dengan H<sup>+</sup> asam karena bersifat elektrofilik. Pemanasan dilakukan untuk mempercepat reaksi hidrolisis (Susiloningrum, *et al.*, 2020). Selain itu, penambahan serbuk Mg setelah penambahan HCl akan terbentuk gelembung gas H<sub>2</sub> (Illing *et al.*, 2017). Hasil reaksi terbentuk senyawa kompleks garam flavilium dapat berwarna merah, kuning, atau jingga pada flavonol, flavonon, flavanonol, dan zanton (Marliana *et al.*, 2005).



Gambar 2. 6 Perkiraan Reaksi Senyawa Flavonoid dengan Pereaksi Logam Mg dan HCl (Nugrahani, *et al.*, 2016)

Uji fitokimia golongan fenol dilakukan dengan penambahan FeCl<sub>3</sub> 5%. Pada golongan senyawa fenol terdapat gugus hidroksil yang dapat bereaksi dengan ion Fe<sup>3+</sup> pada FeCl<sub>3</sub> 5% sehingga terjadi pembentukan senyawa kompleks berwarna hijau kehitaman (Harborne, 1987). Kompleks yang terbentuk diduga berupa besi (III) heksafenolat, sehingga uji ini memberikan indikasi gugus -OH aromatik. Ion yang berperan pada reaksi pembentukan warna besi (III) klorida dalam sampel adalah ion Fe<sup>3+</sup> yang mengalami hibridisasi orbital d<sup>2</sup> sp<sup>3</sup> dimana hasil hibridisasi ion Fe<sup>3+</sup> (4s<sup>0</sup> 3d<sup>5</sup>) terdapat 6 orbital kosong yang dapat diisi oleh donor pasangan

elektron, sehingga dapat diasumsikan pendonor elektron pada senyawaan fenolik berasal dari atom oksigen (Marliana, 2017).

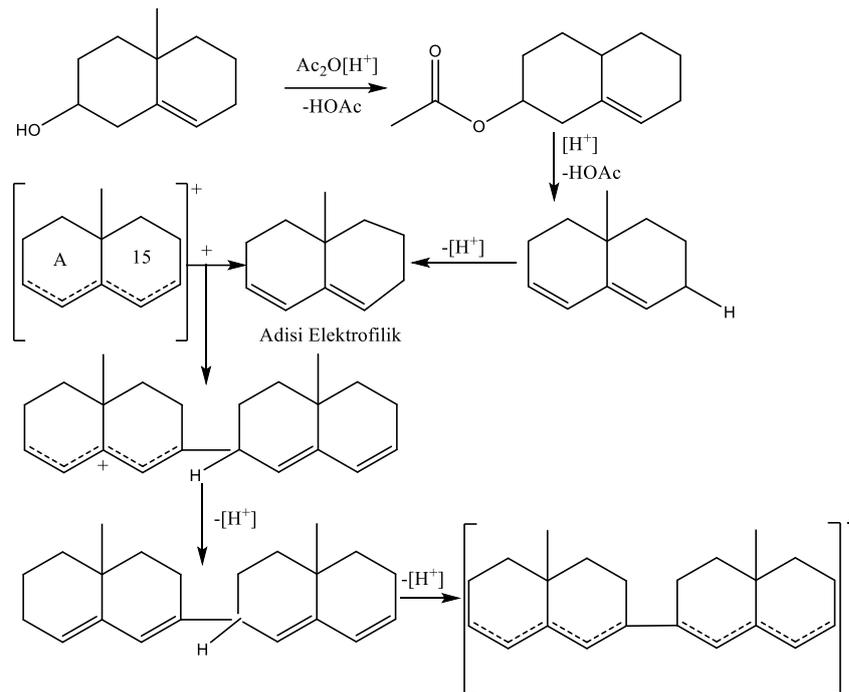


Gambar 2. 7 Perkiraan Reaksi Senyawa Fenol dengan Pereaksi  $\text{FeCl}_3$  (Nugrahani, *et al.*, 2016)

Uji fitokimia golongan tanin dilakukan dengan penambahan pereaksi  $\text{FeCl}_3$  1%. Menurut Harborne (1987) dalam mendeteksi senyawa ini dilakukan dengan penambahan ekstrak dengan  $\text{FeCl}_3$  1% dalam air yang akan menunjukkan warna hijau, ungu, merah, dan biru atau hitam yang kuat. Penambahan reagen  $\text{FeCl}_3$  1% untuk menunjukkan gugus fenol dalam ekstrak karena tanin termasuk senyawa polifenol. Warna hijau kehitaman atau biru tua yang muncul terjadi karena terbentuknya kompleks antara tanin dengan ion  $\text{Fe}^{3+}$ . Terbentuknya senyawa kompleks antara tanin dan  $\text{FeCl}_3$  disebabkan adanya ion  $\text{Fe}^{3+}$  sebagai atom pusat dan tanin memiliki atom O yang mempunyai pasangan elektron bebas yang bisa mengkoordinasikan ke atom pusat sebagai ligananya (Ergina, *et al.*, 2014). Dugaan reaksi antara tanin dan  $\text{FeCl}_3$  dapat dilihat pada Gambar 2.8.



anhidrat berfungsi membentuk turunan asetil dan penambahan asam sulfat berfungsi menghidrolisis air yang bereaksi dengan turunan asetil menghasilkan larutan berwarna. Perubahan warna ini karena pada senyawa triterpenoid/steroid mengalami oksidasi melalui pembentukan ikatan rangkap terkonjugasi (Sulistyarini, 2020).



Gambar 2. 10 Perkiraan Reaksi Senyawa Triterpenoid dengan reagen Liebermann-Burchard (Nugrahani, *et al.*, 2016)

Widowati, *et al* (2022) telah melakukan skrining fitokimia terhadap ekstrak etanol buah lerak dimana didapatkan ekstrak etanol buah lerak positif mengandung golongan senyawa alkaloid, saponin, tanin, fenolik, flavonoid, triterpenoid, steroid, dan dlikosida.

## 2.8 Identifikasi Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri UV-Vis merupakan metode analisis dalam pengukuran senyawa yang didasarkan pada kemampuan senyawa tersebut untuk mengabsorbsi

berkas sinar atau cahaya yang menghasilkan sinar monokromatis pada daerah panjang gelombang 200-400 atau daerah sinar tampak (400–800 nm) (Gandjar, *et al.*, 2012). Pengukuran panjang gelombang berdasarkan eksitasi elektron pada kulit terluar dari tingkat energi yang rendah ke tingkat energi yang lebih tinggi akibat absorpsi sinar UV-Vis oleh molekul (Dachriyanus, 2004). Spektrum yang terbentuk menunjukkan informasi mengenai metabolit sekunder yang terdapat dalam suatu sampel (Panji, 2012).

## **2.9 Identifikasi Menggunakan FTIR**

Spektroskopi FTIR (*fourier transform infrared*) merupakan salah satu teknik analitik yang sangat baik untuk identifikasi struktur molekul suatu senyawa (Sankari, 2010). Prinsip kerja spektrofotometer FTIR yaitu sinar datang (inframerah) mengenai sampel kemudian ditransmisikan lalu diperoleh gelombang interferens yang akan ditampilkan pada detektor. Gelombang yang ditangkap detektor kemudian diubah menjadi sinyal yang diperkuat dan diubah lagi menjadi sinyal digital (Khopkar, 2008). Spektrofotometer FTIR dapat mengidentifikasi senyawa pada 0.75–1.000  $\mu\text{m}$  atau pada rentang bilangan gelombang 13.000–10  $\text{cm}^{-1}$ . Gelombang elektromagnetik mengakibatkan eksitasi pada molekul berupa eksitasi elektronik, rotasi, dan vibrasi (Yudhapratama, 2010).

## **2.10 Uji Difusi Agar**

Antibakteri adalah zat yang dapat mengganggu pertumbuhan dan bahkan mematikan bakteri dengan cara mengganggu metabolisme mikroba yang dapat merugikan manusia (Ganiswarna, 1995). Uji aktivitas antibakteri dapat dilakukan

dengan metode difusi. Difusi agar dilakukan dengan mengukur diameter zona bening (*clear zone*) yang menunjukkan adanya respon penghambatan pada pertumbuhan bakteri oleh senyawa antibakteri dalam suatu ekstrak (Hermawan, *et al.*, 2007).

Kekuatan senyawa antibakteri terbagi dalam tiga ukuran zona yaitu pada zona hambatan 21-30 mm memiliki kekuatan antibakteri yang digolongkan sangat kuat, pada zona hambatan 11–20 mm dapat digolongkan kuat, pada zona hambatan antara 6–10 mm kekuatannya digolongkan sedang, serta pada zona hambatan <6 mm digolongkan memiliki kekuatan lemah (Morales, 2003).

Kloramfenikol merupakan antibiotik yang memiliki bentuk kristal berwarna putih dengan rumus kimia (R-NO<sub>2</sub>) (Syarif, *et al.*, 2012). Kloramfenikol berspektrum luas terhadap organisme Gram-positif dan negatif aerob dan anaerob (Staf Pengajar, 1994). DMSO (Dimetil Sulfoksida) digunakan sebagai kontrol negatif karena DMSO merupakan pelarut yang mampu melarutkan hampir semua senyawa polar ataupun non polar (Assidqi *et al.*, 2012). DMSO tidak bersifat bakterisidal sehingga dipastikan bahwa aktivitas antibakteri murni dari fraksi tanpa dipengaruhi pelarutnya (Reynolds, 1996).

Hasil penelitian Riza dan Oktavia, (2018) membuktikan ekstrak etanol buah lerak dapat berpotensi sebagai antibakteri yaitu anti-*S. aureus* menggunakan metode difusi cakram didapatkan konsentrasi 25; 50; 75; dan 100% berturut-turut membentuk zona bening 0,94; 0,96; 1,02; dan 1,03 mm.

## 2.11 ANOVA

Analisis varian (ANOVA) merupakan salah satu teknik analisis *multivariate* untuk membedakan rerata pada dua kelompok data atau lebih dengan

membandingkan variansinya. ANOVA menjadikan uji-F sebagai salah satu acuan dalam pengambilan keputusan. Analisis varian dilakukan dengan uji hipotesis maupun pendugaan (Ghozali, 2009). Uji ANOVA dibagi menjadi 2 jenis berdasarkan jumlah variable yang diamati, yaitu *one way* ANOVA yang digunakan jika ada satu variabel yang ingin diamati dan *two-way* ANOVA digunakan dalam mengamati dua buah variabel (Tannady dan Munardi, 2017).

Uji Beda Nyata Jujur (BNJ) atau dikenal dengan *Honestly Significant Difference* (HSD) adalah suatu prosedur uji lanjut yang dikembangkan oleh Tukey. Prinsip uji BNJ ini sama dengan uji BNT dengan digunakan tabel q Tukey. Dengan uji ini dapat diperkecil resiko kesalahan perbandingan seperti yang terdapat pada uji BNT (Mardinata, 2013).

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Waktu dan Tempat Pelaksanaan**

Penelitian dilaksanakan pada 1 November 2022 yang bertempat di Laboratorium Kimia Organik Program Studi Kimia Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

#### **3.2 Alat dan Bahan**

##### **3.2.1 Alat**

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini yakni timbangan analitik, oven, *rotary evaporator* vakum, corong Buchner, pompa vakum, gelas ukur, Erlenmeyer, pipet ukur, pipet tetes, tabung reaksi, kertas saring, aluminium foil, *plastic wrap*, botol asi, spatula, corong pisah, gelas beaker, batang pengaduk, autoklaf, inkubator, LAF, spektrofotometer UV-Vis, *vortex*, lampu Bunsen, cawan petri, tabung reaksi, kertas cakram diameter 6 mm, gelas ukur, mikro pipet, tip, pinset, jangka sorong, jarum ose, stirer, kertas, kertas label, kasa, kapas, dan KBr.

##### **3.2.2 Bahan**

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian yaitu serbuk buah lerak dengan kadar air 6,4%, etanol 96%, etil asetat, n-heksana, aquades, media nutrient agar, media nutrient broth, biakan murni bakteri *S. aureus* dan *E. coli*, kloramfenikol, reagen Mayer, reagen Dragendorff, reagen Wagner, serbuk Mg, HCl, kloroform, asam asetat, FeCl<sub>3</sub>, DMSO, dan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

### 3.3 Rancangan Penelitian

Buah lerak dari Malang dicuci, dipisahkan dari bijinya dan dipotong lalu dilakukan pengeringan, penyerbukkan dan pengayakan di Matera medika, Malang. Kemudian sampel diekstraksi dengan metode sonikasi menggunakan pelarut etanol p.a pada frekuensi 42 kHz selama 20 menit. Selanjutnya ekstrak dipekatkan dengan *rotary evaporator vacuum*. Lalu ekstrak pekat dihidrolisis dengan HCl 2N dan dinetralkan dengan NaHCO<sub>3</sub>. Setelah itu, Ekstrak kasar dipartisi menggunakan etil asetat dan n-heksana. Ekstrak kasar etanol, fraksi etil asetat dan n-heksana dilakukan uji fitokimia dan identifikasi dengan spektrofotometer UV-Vis dan FTIR. Selanjutnya, ekstrak kasar etanol, fraksi etil asetat dan n-heksana diuji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus* menggunakan variasi konsentrasi A (larutan induk= 1 g ekstrak dilarutkan 1 mL DMSO), B (0,5 mL larutan induk ditambahkan 0,5 mL DMSO), C (0,5 mL larutan B ditambahkan 0,5 mL DMSO), dan D (0,5 mL larutan C ditambahkan 0,5 mL DMSO).

Rancangan percobaan pada penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Variasi pelarut yaitu P<sub>1</sub> = Ekstrak etanol; P<sub>2</sub> = Fraksi etil asetat; dan P<sub>3</sub> = Fraksi n-heksana. Variasi konsentrasi ekstrak buah lerak yaitu C<sub>1</sub> = konsentrasi A; C<sub>2</sub> = konsentrasi B; C<sub>3</sub> = konsentrasi C; dan C<sub>4</sub> = konsentrasi D

**Tabel 3. 1** Rancangan penelitian

K	P		
	P <sub>1</sub> (Etanol)	P <sub>2</sub> (Etil asetat)	P <sub>3</sub> (N-Heksana)
C <sub>1</sub> (A)	P <sub>1</sub> C <sub>1</sub>	P <sub>2</sub> C <sub>1</sub>	P <sub>3</sub> C <sub>1</sub>
C <sub>2</sub> (B)	P <sub>1</sub> C <sub>2</sub>	P <sub>2</sub> C <sub>2</sub>	P <sub>3</sub> C <sub>2</sub>
C <sub>3</sub> (C)	P <sub>1</sub> C <sub>3</sub>	P <sub>2</sub> C <sub>3</sub>	P <sub>3</sub> C <sub>3</sub>
C <sub>4</sub> (D)	P <sub>1</sub> C <sub>4</sub>	P <sub>2</sub> C <sub>4</sub>	P <sub>3</sub> C <sub>4</sub>
Kontrol positif (K+)		K+	
Kontrol negatif (K-)		K-	

Berdasarkan kedua variasi maka didapatkan 12 kombinasi perlakuan dengan pengulangan setiap perlakuan sebanyak 3 kali dan didapatkan 36 satuan percobaan. Pada percobaan ini digunakan kontrol positif dan kontrol negatif pada setiap jenis pelarut sebanyak 6 perlakuan.

Data yang diperoleh dianalisis dengan two-way ANOVA dan apabila dihasilkan beda nyata setiap perlakuan maka dilakukan uji lanjut Beda Nyata Jujur (BNJ) menggunakan perangkat lunak SPSS 26.0.

### **3.4 Tahapan Kerja**

Tahapan kerja pada penelitian ini sebagai berikut:

1. Tahap pertama dilakukan preparasi sampel
2. Ekstraksi menggunakan metode sonikasi dengan pelarut etanol
3. Dilakukan hidrolisis dan partisi menggunakan etil asetat dan n-heksana
4. Uji skrining fitokimia pada ekstrak etanol, fraksi etil asetat dan fraksi n-heksana
5. Identifikasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan FTIR
6. Uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus* dengan metode difusi agar
7. Analisis data ANOVA

### **3.5 Cara Kerja**

#### **3.5.1 Preparasi Buah Lerak**

Pada penelitian ini menggunakan buah lerak dengan karakteristik fisik matang berwarna hitam kecoklatan dan empuk. Buah lerak 1 kg dicuci di bawah air

mengalir, ditimbang, daging buah dipotong dengan lebar  $\pm 3$  mm (Cahyani, 2019). Setelah itu, dikeringkan dalam lemari pengering suhu  $\pm 40^{\circ}\text{C}$  selama 3 hari. Lerak kering dihaluskan dan diayak menggunakan ayakan 100 mesh. Kemudian bubuk kering ditimbang (Nafiunisa, *et al.*, 2019).

### 3.5.2 Ekstraksi Sonikasi

Ekstraksi dengan metode sonikasi dalam Erlenmeyer menggunakan pelarut etanol. Perbandingan sampel dan pelarut 1:10 (b/v) yaitu menggunakan 30 gram sampel dengan 300 mL pelarut. Lalu diekstraksi dengan sonikasi *waterbath* frekuensi 42 kHz dalam waktu 20 menit pada suhu ruang (Jamilah, 2021). Ekstraksi dilakukan dengan tiga kali pengulangan. Ekstrak yang diperoleh setelah penyaringan kemudian diuapkan pelarutnya hingga beratnya konstan (Silviani, 2017). Lalu ditentukan rendemennya menggunakan persamaan

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak}}{\text{Berat simplisa}} \times 100\% \dots \dots \dots (3.1)$$

### 3.5.3 Hidrolisis dan Partisi

Berdasarkan Khasanah (2018) hidrolisis ekstrak kasar dilakukan dengan menambahkan 10 mL HCl 2 N dalam 5 g ekstrak pekat, kemudian distirer dengan *hot plate stirrer* selama 2 jam pada suhu ruang. Selanjutnya ditambahkan natrium bikarbonat hingga pH netral. Hidrolisat yang diperoleh dipartisi dengan pelarut etil asetat dan n-heksana.

Ekstrak hasil hidrolisis dimasukkan ke dalam corong pisah dan ditambahkan pelarut n-heksana sebanyak 25 mL. Selanjutnya dilakukan pengocokan selama 15

menit, lalu didiamkan beberapa saat hingga terbentuk dua lapisan yaitu lapisan organik dan lapisan air. Masing-masing lapisan yang terbentuk kemudian dipisahkan. Lapisan organik fraksi n-heksana ditampung dalam *beaker glass* dan lapisan air dipartisi kembali dengan pelarut n-heksana. Perlakuan ini diulang hingga 3 kali pengulangan. Lapisan organik dikumpulkan dan dipekatkan dengan *rotary evaporator vacuum* hingga diperoleh fraksi pekat n-heksana. Dilakukan proses yang sama pada pelarut etil asetat. Masing-masing fraksi pekat ditimbang dan dihitung *yield*nya menggunakan persamaan (3.2).

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Berat fraksi}}{\text{Berat ekstrak}} \times 100\% \dots\dots\dots(3.2)$$

### 3.5.4 Uji Fitokimia

#### 3.5.4.1 Uji Alkaloid

Ekstrak kasar ditambah 0,5 mL HCl 2%, selanjutnya larutan dibagi dalam dua tabung. Tabung I ditambahkan 2–3 tetes reagen Dragendorff, tabung II ditambahkan 2–3 tetes reagen Mayer. Jika tabung I terbentuk endapan jingga dan pada tabung II terbentuk endapan kekuning-kuningan menunjukkan adanya alkaloid (Indrayani, *et al.*, 2006).

#### 3.5.4.2 Uji Fenol

Ekstrak 30 mg ditambahkan 10 tetes FeCl<sub>3</sub> 5%. Ekstrak positif mengandung fenol apabila menghasilkan warna hijau, merah, ungu, biru atau hitam pekat (Harborne, 1987).

#### **3.5.4.3 Uji Saponin**

Ekstrak sebanyak 1 mg dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan aquades 10 mL, kemudian dikocok selama 1 menit. Ditambahkan HCl 1N. Jika busa yang dihasilkan bertahan selama 10 menit dengan ketinggian 1-3 cm, maka ekstrak positif mengandung saponin (Arifin, *et al.*, 2013).

#### **3.5.4.4 Uji Flavonoid**

Ekstrak sebanyak 1 mg dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan etanol panas sebanyak 1-2 mL. Selanjutnya ditambahkan serbuk Mg dan 0,5 mL HCl 2N. Jika terbentuk larutan berwarna merah atau jingga itu menunjukkan adanya flavonoid (Harborne, 1987).

#### **3.5.4.5 Uji Tanin**

Sebanyak 40 mg ekstrak dilarutkan 4 mL air, selanjutnya ekstrak yang sudah larut diambil sebanyak 2 mL kemudian ditambahkan 1 mL FeCl<sub>3</sub> 1%. Apabila terbentuk warna biru tua atau hitam kehijauan mengindikasikan adanya senyawa tanin (Simaremare, 2014).

#### **3.5.4.6 Uji Steroid/Triterpenoid**

Sebanyak 2 mL ekstrak ditambahkan kloroform, 10 tetes asam asetat glasial dan 2 tetes H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat. Larutan dikocok secara perlahan dan dibiarkan selama beberapa saat. Adanya steroid ditunjukkan dengan perubahan warna menjadi biru atau hijau, sedangkan positif triterpenoid memberikan warna merah atau ungu (Harborne, 1987)

### **3.5.5 Identifikasi Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis**

Ekstrak etanol, fraksi etil asetat, dan fraksi n-heksana buah lerak kemudian diidentifikasi menggunakan instrumen spektroskopi UV-Vis dengan dilarutkan sampel dengan 5 mL masing-masing pelarut. Setelah itu divortex hingga larut dengan sempurna. Selanjutnya dimasukkan dalam kuvet dan diukur panjang gelombang maksimumnya menggunakan spektroskopi UV-Vis dengan panjang gelombang 200–800 nm (Maharani, *et al.*, 2016).

### **3.5.6 Identifikasi Menggunakan FTIR**

Ekstrak etanol, fraksi etil asetat, dan fraksi n-heksana buah lerak dikarakterisasi menggunakan FT-IR pada bilangan gelombang 400–4.000  $\text{cm}^{-1}$ . Ekstrak digerus dengan KBr menggunakan *mortar agate* kemudian dibuat pelet dengan cara di press menggunakan tekanan 80 torr. Pelet dianalisis gugus fungsinya menggunakan spektrofotometer FT-IR dengan keluaran berupa spektra (Fasya *et al.*, 2016).

### **3.5.7 Uji Aktivitas Antibakteri**

#### **3.5.7.1 Sterilisasi Alat**

Alat berbahan kaca dibungkus aluminium foil dan dimasukkan ke dalam autoklaf pada suhu 121°C dalam waktu 15 menit untuk disterilkan. Kemudian alat dikeluarkan dan disimpan pada tempat yang kering. Alat lain seperti jarum ose sterilisasi dilakukan menggunakan pijar api dan lampu spiritus dan pada kaca preparat menggunakan alkohol 70% (Fitria, 2020).

### 3.5.7.2 Pembuatan Media

Media NB (Nutrien Broth) diambil sebanyak 0,8 gram, dilarutkan dalam 100 mL aquades dalam Erlenmeyer kemudian ditutup dengan aluminium foil. Dipanaskan hingga mendidih lalu ditutup dengan kapas, disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 15 psi (Rahmawati, 2014).

Selanjutnya pembuatan media Nutrient Agar dengan menimbang 2 gram NA lalu dimasukkan ke dalam Erlenmeyer. Kemudian diencerkan dalam 100 mL pelarut akuades lalu ditutup dengan aluminium foil. Setelah itu dipanaskan sampai mendidih. Selanjutnya dipindahkan ke tabung reaksi dan ditutup rapat menggunakan kapas. Sterilisasi menggunakan autoklaf suhu 121°C selama 15 menit serta tekanan 15 psi. Setelah dimasukkan tabung reaksi dan dibiarkan dingin pada suhu ruang dengan kondisikan miring.

### 3.5.7.3 Peremajaan Bakteri

Peremajaan dari biakan murni dari bakteri *E. coli* dan *S. aureus* dilakukan pada media miring NA. Jarum ose disterilkan kemudian bakteri diambil dan digoreskan pada media NA secara *aseptic*. Setelah itu tabung reaksi media NA ditutup dengan rapat secara *aseptic* pula dan diinkubasi di dalam inkubator dengan suhu 37°C dalam waktu tepat 1 hari (Utami, 2014).

#### **3.5.7.4 Pembuatan Inokulum Bakteri *S. aureus* dan *E. coli***

Biakan murni bakteri *S. aureus* dan *E. coli* diambil sebanyak 2 ose disuspensikan dalam 25 mL media NB. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 18 jam. Bakteri yang digunakan memiliki nilai OD 0,5 (Rachmawati, 2014).

#### **3.5.7.5 Persiapan Sampel Uji**

Ekstrak larutan induk (A) dibuat dengan cara sebanyak 1 gram ekstrak ditambahkan dengan 1 mL DMSO kemudian dihomogenkan. Dibuat pengenceran larutan selanjutnya (B) dengan diambil 0,5 mL dari larutan induk dan ditambahkan dengan 0,5 mL DMSO kemudian dihomogenkan. Dilakukan pembuatan larutan seri selanjutnya (C dan D) dengan cara yang sama.

#### **3.5.7.6 Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol, Fraksi Etil Asetat dan n-Heksana Terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus***

Larutan biakan aktif bakteri diambil sebanyak 0,1 mL dan dimasukkan ke dalam cawan petri steril. Kemudian media NA sebanyak 10 mL dipanaskan hingga mencair, lalu didinginkan sampai suhu 40°C dan dituangkan dalam cawan petri yang berisi larutan biakan aktif bakteri. Selanjutnya dihomogenkan dan dibiarkan hingga memadat. Kertas cakram dengan diameter 6 mm direndam dalam masing-masing ekstrak dan larutan kontrol selama 25 menit. Proses peresapan dilakukan dengan cara kertas cakram dimasukkan ke dalam larutan kontrol positif (Kloramfenikol), larutan kontrol negatif (DMSO) dan larutan ekstrak dan fraksi (Khoiriyah, 2014). Kontrol positif yang digunakan yaitu kloramfenikol dan kontrol negatif yaitu pelarut ekstrak (DMSO). Cakram diletakkan secara aseptis di atas media yang telah ditanami bakteri uji dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24

jam, lalu dilakukan pengukuran zona hambat di sekitar cakram menggunakan jangka sorong (Zakiyah, *et al.*, 2015). Uji aktivitas antibakteri dilakukan pengulangan pada masing-masing konsentrasi sebanyak 3 kali. Diameter zona hambat ditentukan dengan rumus:

$$\text{Zona hambat} = \text{diameter keseluruhan} - \text{diameter cakram} \dots \dots \dots (3.3)$$

### **3.5.8 Analisis Data**

Data yang diperoleh berupa zona hambat dianalisis two-way ANOVA menggunakan SPSS 26.0 untuk mengetahui ada atau tidaknya pengaruh setiap perlakuan yaitu konsentrasi ekstrak dan pelarut terhadap hasil aktivitas bakteri. Apabila dihasilkan beda nyata setiap perlakuan maka dilakukan uji lanjut Beda Nyata Jujur (BNJ) pada taraf kepercayaan 95% ( $\alpha=5\%$ ).

## BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Ekstraksi Buah Lerak (*Sapindus rarak*)

Ekstraksi bertujuan untuk mengambil senyawa metabolit sekunder di dalam sampel. Metode ekstraksi sonikasi menggunakan frekuensi 42 KHz dilakukan karena pelarut akan menembus dinding sel dan mengekstrak komponen aktif yang terdapat dalam buah lerak secara optimal. Utami, *et al.* (2009) menjelaskan bahwa frekuensi 42 KHz dapat menghancurkan sel tanaman sehingga proses perpindahan massa senyawa aktif dari dalam sel ke pelarut menjadi lebih cepat. Selain itu, intensitas gelombang yang digunakan adalah tergolong intensitas rendah, sehingga tidak merusak bahan. Ekstraksi berlangsung selama 20 menit karena menurut Yuliantari, *et al.* (2017) waktu ekstraksi yang lama menyebabkan hilangnya senyawa aktif dikarenakan penguapan, sebaliknya pada waktu ekstraksi terlalu singkat mengakibatkan tidak maksimalnya senyawa metabolit sekunder yang terekstrak sehingga menghasilkan senyawa yang rendah.



(a)

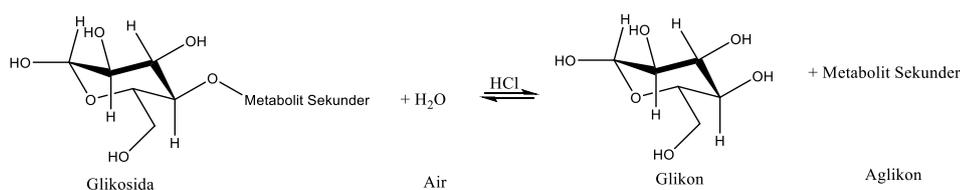
Gambar 4. 1 Ekstrak Etanol Buah Lerak

Rendemen ekstrak etanol diperoleh sebesar 71,9108%. Nilai rendemen yang besar ini dikarenakan etanol memiliki sifat polar dan didukung oleh keberadaan senyawa metabolit sekunder pada ekstrak sampel dari alam masih berada dalam

bentuk glikosidanya sehingga banyak terekstrak pada pelarut polar (Amalia *et al*, 2018). Anisah (2014) menyatakan etanol memiliki gugus hidroksil yang bersifat polar dan gugus alkil yang bersifat non polar. Keberadaan dua gugus tersebut menyebabkan senyawa-senyawa dengan tingkat kepolaran berbeda mampu ditarik oleh pelarut etanol. Efektivitas proses ekstraksi dipengaruhi oleh jenis pelarut yang digunakan sebagai penyari, ukuran partikel simplisia dan lamanya ekstraksi (Trinovita, *et al.*, 2020).

#### 4.2 Hidrolisis dan Partisi Ekstrak Etanol Buah Lerak (*Sapindus rarak*)

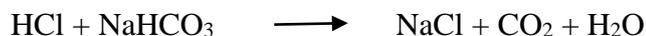
Ekstrak kasar etanol dihidrolisis untuk melepaskan ikatan glikosida dari senyawa metabolit sekundernya dengan bantuan katalis HCl 2N. Menurut Artati, *et al.* (2013) konsentrasi HCl 2N adalah konsentrasi yang optimum untuk hidrolisis. Selain itu, HCl membentuk garam NaCl yang tidak berbahaya pada saat penetralan menggunakan NaHCO<sub>3</sub> (Saleh, *et al.*, 2016). Dugaan reaksi hidrolisis dinyatakan pada gambar berikut.



Gambar 4. 2 Reaksi Hidrolisis Ekstrak Kasar (Mardiyah, 2014)

Reaksi hidrolisis merupakan reaksi *reversible*, karenanya diperlukan penambahan NaHCO<sub>3</sub> hingga netral untuk menghentikan reaksinya. Penetralan ini dilakukan agar ikatan glikosida antara glikon dan aglikon tidak dapat terbentuk kembali. Dalam reaksinya, proses hidrolisis membentuk produk garam, gas CO<sub>2</sub>

dan air. Pada penambahan  $\text{NaHCO}_3$  membentuk gelembung-gelembung udara yang menandakan terbentuknya gas  $\text{CO}_2$ .

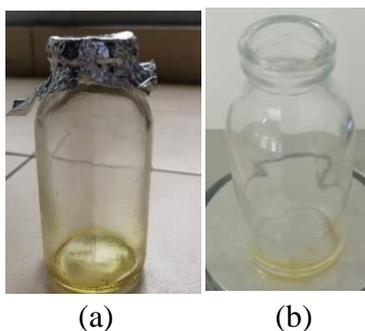


Gambar 4. 3 Reaksi Netralisasi Asam (Handoko, 2016)

Hasil hidrolisat masih berupa metabolit sekunder (aglikon) yang terputus dari gugus gulanya (glikon) sehingga perlu pemisahan lebih lanjut melalui proses partisi untuk mendapatkan senyawa metabolit sekunder yang lebih spesifik. Partisi dilakukan menggunakan pelarut yang berbeda tingkat kepolarannya karena prinsip proses partisi yaitu penarikan senyawa dengan dua pelarut yang berbeda sifat kepolarannya (Aliwu, *et al.*, 2020). Partisi menggunakan pelarut etil asetat dan n-heksana dimana etil asetat memiliki sifat semi polar sedangkan n-heksana memiliki sifat non polar (Susanti, *et al.*, 2012). Setelah penambahan pelarut terbentuk 2 lapisan, yakni lapisan organik (atas) dan lapisan fasa air (bawah) dikarenakan adanya perbedaan massa jenis. Firdausi (2015) menyatakan penggunaan pelarut dengan perbedaan tingkat kepolaran dapat mempengaruhi jenis senyawa yang terekstrak. Selain itu, senyawa akan lebih murni dan aktivitasnya akan tinggi.

**Tabel 4. 1** Rendemen dan warna hasil partisi buah lerak

Sampel	Rendemen (%)	Warna
Fraksi Etil Asetat	5,1307	Hijau
Fraksi n-Heksana	0,3493	Hijau kekuningan



Gambar 4. 4 a) Fraksi Etil Asetat, b) Fraksi n-Heksana

Proses partisi menghasilkan rendemen sebesar 5,1307% pada fraksi etil asetat dan sebesar 0,3493% pada fraksi n-heksana. Fraksi etil asetat buah lerak memiliki rendemen yang lebih besar dibandingkan fraksi n-heksana. Hal tersebut menunjukkan bahwa senyawa aktif dalam ekstrak buah lerak memiliki kepolaran yang mirip dengan etil asetat daripada dengan n-heksana. Senyawa dengan sifat seperti pelarut tersebut dapat larut larut dalam pelarut dengan sifat yang sama (Sari, *et al.*, 2020).

Hasil ekstrak dengan pelarut yang berbeda-beda memberikan warna yang berbeda-beda pula. Pada fraksi etil asetat berwarna hijau, dan fraksi n-heksana berwarna hijau kekuningan. Perbedaan warna ini karena pengaruh pelarut menentukan zat warna yang dapat terekstrak. Kepolaran pelarut dapat mempengaruhi jenis pigmen zat warna yang terekstrak (Putra *et al*, 2014).

#### **4.3 Uji Fitokimia Buah Lerak (*Sapindus rarak*)**

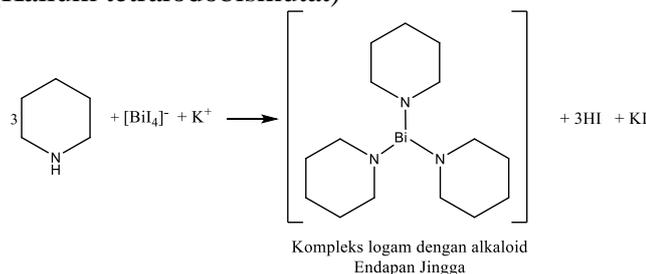
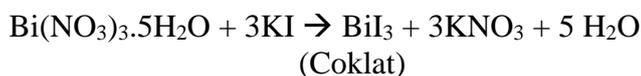
Uji fitokimia terhadap ekstrak etanol, fraksi etil asetat dan fraksi n-heksana dilakukan sebagai skrining awal kandungan metabolit sekunder yang terdapat pada buah lerak. Skrining fitokimia yang digunakan yaitu mereaksikan ekstrak dengan suatu pereaksi tertentu yang sesuai dengan senyawa target sehingga terjadi perubahan warna untuk menunjukkan kandungan golongan senyawa metabolit sekunder tertentu. Hasil uji fitokimia ekstrak buah lerak ditunjukkan pada Tabel 4.2

**Tabel 4. 2** Hasil Uji Fitokimia Ekstrak/Fraksi Buah Lerak

Senyawa Metabolit Sekunder	Hasil		
	Ekstrak Etanol	Fraksi Etil Asetat	Fraksi n- Heksana
Alkaloid			
a. Dragendorff	++	-	-
b. Meyer	+	-	-
Fenol	+++	++	+
Tanin	++	-	+
Flavonoid	++	+	-
Saponin	+	-	-
Steroid	-	-	-
Triterpenoid	+++	++	+

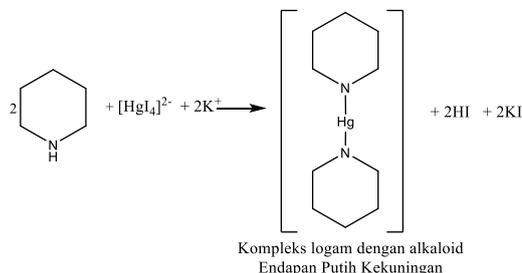
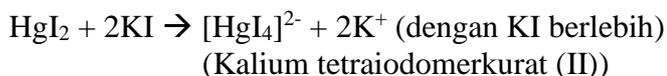
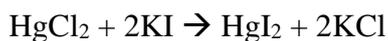
Keterangan: +++: Warna pekat  
 ++: Warna cukup pekat  
 +: Warna muda  
 -: Tidak terbentuk warna

Berdasarkan hasil uji fitokimia ekstrak etanol mengandung golongan senyawa alkaloid yang ditandai dengan terbentuknya endapan berwarna kekuningan saat direaksikan dengan reagen dragendorff yang diduga merupakan endapan kompleks bismut-alkaloid. Reaksi alkaloid dengan reagen dragendorff digambarkan dalam reaksi berikut



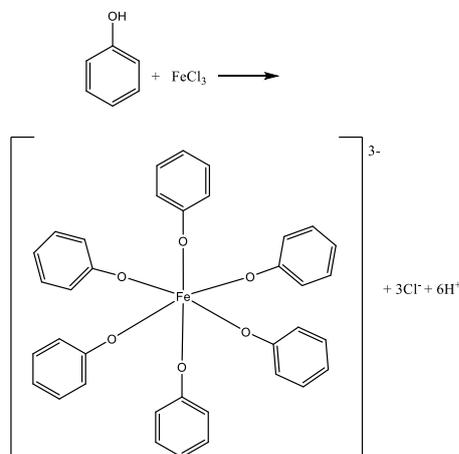
**Gambar 4. 5** Perkiraan Reaksi Senyawa Alkaloid dengan Pereaksi Dragendroff (Lutfillah, 2008)

Hasil positif uji alkaloid dengan reagen Mayer ditandai dengan terbentuknya endapan putih kompleks merkuri-alkaloid. Reaksi yang terjadi pada uji Mayer ditunjukkan pada gambar berikut.



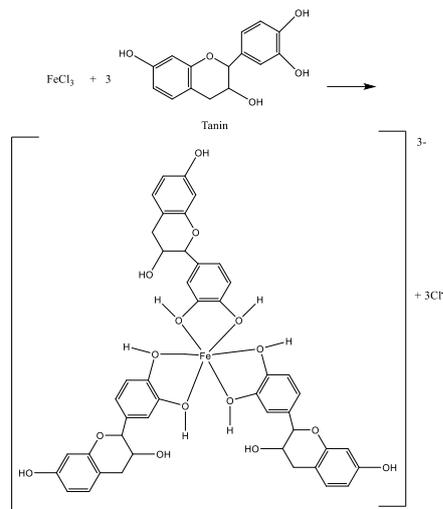
Gambar 4. 6 Perkiraan Reaksi Senyawa Alkaloid dengan Pereaksi Mayer (Lutfillah, 2008)

Pada ekstrak etanol, fraksi etil asetat, dan fraksi n-heksana mengandung golongan senyawa fenol yang ditandai dengan perubahan warna menjadi hijau kehitaman setelah penambahan ekstrak dengan  $\text{FeCl}_3$  5%. Warna hijau yang terbentuk diduga berupa kompleks besi (III) heksa fenolat. Reaksi uji fitokimia fenol dengan pereaksi  $\text{FeCl}_3$  ditunjukkan pada gambar berikut.



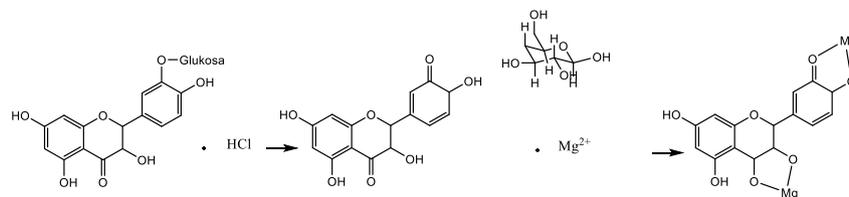
Gambar 4. 7 Perkiraan Reaksi Senyawa Fenol dengan Pereaksi  $\text{FeCl}_3$  (Nugrahani, *et al.*, 2016)

Hasil uji tanin menunjukkan bahwa ekstrak etanol buah lerak dan fraksi n-heksana positif mengandung senyawa tanin dimana ditandai dengan terbentuknya warna hijau kehitaman setelah penambahan  $\text{FeCl}_3$  1%. Warna hijau kehitaman yang muncul terjadi karena terbentuknya kompleks antara tanin dengan ion  $\text{Fe}^{3+}$ .



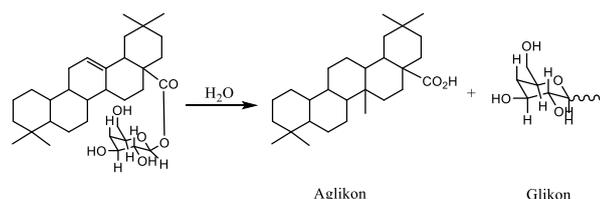
Gambar 4. 8 Perkiraan Reaksi Senyawa Tanin dengan Pereaksi  $\text{FeCl}_3$  (Perron dan Brugmaghim, 2009)

Hasil uji untuk golongan senyawa flavonoid menunjukkan ekstrak etanol dan fraksi etil asetat buah lerak mengandung senyawa flavonoid yang ditandai dengan terbentuknya warna merah kejinggaan. Perubahan warna diduga akibat terbentuknya kompleks garam flavilium pada hasil ekstrak setelah penambahan etanol panas, serbuk Mg, dan HCl.



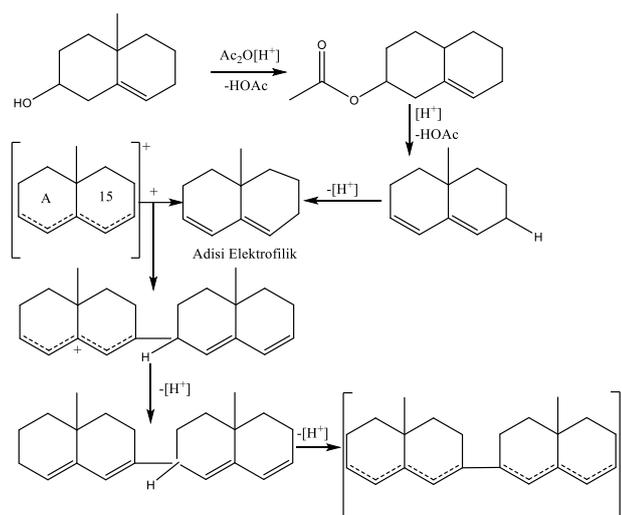
Gambar 4. 9 Perkiraan Reaksi Senyawa Flavonoid dengan Pereaksi Logam Mg dan HCl (Nugrahani, *et al.*, 2016)

Pada ekstrak etanol buah lerak positif mengandung senyawa golongan saponin dimana ditandai dengan adanya gelembung stabil setelah dilakukan pengocokan ekstrak dengan aquades. Reaksi pada uji saponin ditunjukkan pada reaksi berikut ini



Gambar 4. 10 Perkiraan Reaksi Hidrolisis Senyawa Saponin dengan H<sub>2</sub>O (Nugrahani, *et al.*, 2016)

Uji fitokimia senyawa triterpenoid terhadap ekstrak etanol, fraksi etil asetat, dan fraksi n-heksana buah lerak positif mengandung golongan senyawa triterpenoid yang ditandai dengan terbentuknya cincin berwarna coklat setelah penambahan reagen Liebermann-Burchard (asam asetat anhidrat dan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). Reaksi antara triterpenoid dengan reagen Liebermann menghasilkan warna merah-ungu akibat terjadinya perpanjangan konjugasi pada senyawa.



Gambar 4. 11 Perkiraan Reaksi Senyawa Triterpenoid dengan reagen Liebermann-Burchard (Nugrahani, *et al.*, 2016)

Tabel 4.2 menunjukkan bahwa ekstrak etanol buah lerak mengandung golongan senyawa metabolit sekunder triterpenoid, flavonoid, tanin, saponin, dan alkaloid. Menurut Fajriyati (2017) hasil uji fitokimia ekstrak etanol buah lerak positif mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, kuinon, terpenoid, dan fenol. Hasil Uji fitokimia ekstrak etanol menunjukkan ekstraksi dengan pelarut

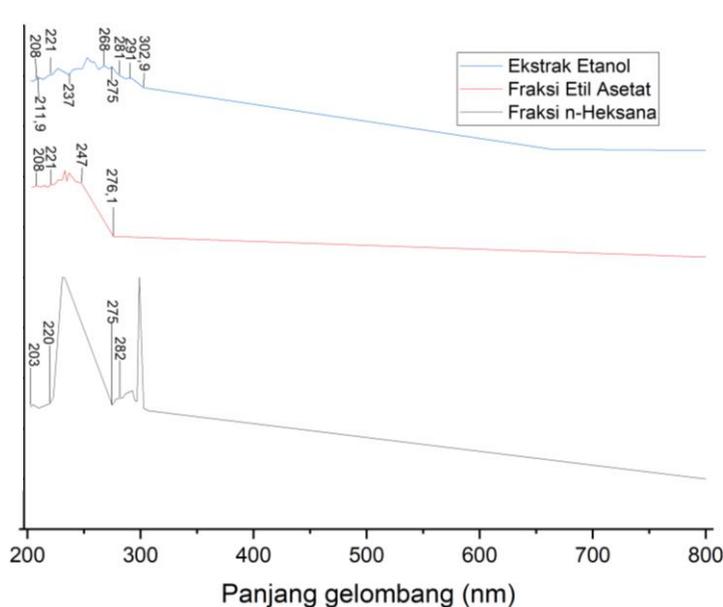
etanol dapat menarik lebih banyak senyawa metabolit sekunder. Etanol memiliki polaritas yang cenderung bersifat universal, sehingga dapat menarik senyawa metabolit sekunder yang bersifat polar, semipolar, dan nonpolar (Ramadhan *et al*, 2020).

Adapun fraksi etil asetat mengandung golongan senyawa triterpenoid, flavonoid, dan fenol. Etil asetat merupakan pelarut semipolar yang dapat mengekstrak senyawa-senyawa polar dan nonpolar. Pada hasil uji fitokimia fraksi etil asetat tidak mengandung alkaloid, tanin dan saponin. Hal ini dapat dimungkinkan karena senyawa-senyawa tersebut telah terdistribusi pada fase air saat proses partisi (Desiyana *et al*, 2016). Menurut Silviani (2014) hasil uji fitokimia pada ekstrak etil asetat buah lerak menunjukkan golongan senyawa flavonoid, alkaloid, saponin, tannin, polifenol. Pengolahan bahan baku dapat mempengaruhi kandungan senyawa kimia yang terekstrak dari suatu tanaman (Ramadhan, 2020).

Hasil uji fitokimia pada fraksi n-heksana hasil hidrolisis buah lerak menunjukkan adanya golongan senyawa fenol, tanin dan triterpenoid. Ketersediaan senyawa ini cukup berbeda dengan hasil uji fitokimia yang dilakukan Cahyana *et al* (2020) dimana fraksi n-heksana buah lerak mengandung alkaloid dan terpenoid. Perbedaan ini dimungkinkan karena perbedaan pengolahan sampel. Selain itu, lingkungan tempat tumbuh tanaman yang bervariasi dapat mempengaruhi pertumbuhan tanaman dengan jenis yang sama dan pada senyawa kimia yang dihasilkan termasuk dari segi jumlah dan komposisinya (Uddin, 2019).

#### 4.4 Identifikasi menggunakan Spektrofotometri UV-Vis

Terhadap ekstrak etanol, fraksi etil asetat dan fraksi n-heksana selanjutnya dilakukan identifikasi senyawa menggunakan spektrofotometer UV-Vis untuk memperkuat dugaan uji fitokimia. Berikut merupakan gambar identifikasi menggunakan spektrofotometri UV-Vis.



Gambar 4. 12 Spektra Hasil Spektrofotometer UV-Vis

**Tabel 4. 3** Hasil Identifikasi Senyawa Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis

Panjang Gelombang (nm)			Transisi Elektronik	Gugus Fungsi	Dugaan Senyawa
Ekstrak Etanol	Fraksi Etil Asetat	Fraksi n-Heksana			
237	-	-	$\pi \rightarrow \pi^*$	C=O terkonjugasi	Alkaloid
281	-	-	$\eta \rightarrow \pi^*$	N-H	Alkaloid
221	221	220	$\pi \rightarrow \pi^*$	C=C	Fenol
268	276,1	275	$\eta \rightarrow \pi^*$	O-H	Fenol
291	-	282	$\pi \rightarrow \pi^*$	C=C	Tanin
302,9	-	-	$\eta \rightarrow \pi^*$	C=O	Flavonoid
275	247	-	$\pi \rightarrow \pi^*$	C=C terkonjugasi	Flavonoid
211,9	-	-	$\pi \rightarrow \pi^*$	C=C tak terkonjugasi	Saponin
208	208	203	$\pi \rightarrow \pi^*$	C=C tak terkonjugasi	Triterpenoid

Berdasarkan spektra pada Gambar 4.11 menunjukkan bahwa ekstrak etanol buah lerak memiliki 2 puncak serapan pada 237 nm dan 281 nm yang diduga merupakan senyawa golongan alkaloid. Serapan pada panjang gelombang 237 nm terjadi akibat transisi elektron  $\pi \rightarrow \pi^*$ . Selain itu, serapan pada panjang gelombang 281 nm menunjukkan adanya transisi  $\eta \rightarrow \pi^*$  dari elektron pada atom N yang mengabsorpsi pada panjang gelombang lebih dari 270 nm. Idrus, *et al* (2013) menyatakan alkaloid memiliki dua puncak panjang gelombang maksimum 282,5 nm dan 237,5 nm dimana 237,5 nm menunjukkan adanya energi eksitasi elektron  $\pi \rightarrow \pi^*$  pada C=O dan 282,5 nm menunjukkan terjadinya eksitasi  $\eta \rightarrow \pi^*$  pada N-H yang diduga merupakan golongan alkaloid.

Ekstrak etanol buah lerak memiliki panjang gelombang maksimum 221 dan 268 nm. Pada fraksi etil asetat memiliki panjang gelombang maksimum 221 dan 276,1 nm. Serta pada fraksi n-heksana terdapat panjang gelombang maksimum 220 dan 275 nm yang diduga merupakan golongan senyawa fenol. Serapan pada panjang gelombang maksimum 221 dan 220 nm mengindikasikan terjadinya transisi elektron dari  $\pi \rightarrow \pi^*$  dari ikatan C=C. Serapan maksimum pada panjang gelombang 268, 276 dan 275 nm mengindikasikan adanya eksitasi elektron untuk ikatan O-H yaitu  $\eta \rightarrow \pi^*$ . Craswell (1991) menyatakan senyawa fenolik menunjukkan serapan pada panjang gelombang kisaran 260–280 nm. Sasmita, *et al* (2019) telah mengisolasi senyawa fenol dari kulit batang eboni dan didapatkan serapan pada panjang gelombang maksimum 221 dan 273 nm yang menunjukkan transisi elektron  $\pi \rightarrow \pi^*$  ikatan C=C. Pada hasil isolasi senyawa fenolik fraksi metanol Bunga Nusa Indah didapatkan panjang gelombang maksimum 221,0 dan 267 nm (Utami, *et al.*, 2017).

Pada ekstrak etanol dan fraksi n-heksana buah lerak memiliki serapan pada panjang gelombang 291 nm dan 282 nm yang mengindikasikan adanya golongan senyawa tanin. Panjang gelombang maksimum 291 nm dan 282 merupakan serapan yang muncul akibat transisi elektron dari  $\pi \rightarrow \pi^*$  pada ikatan C=O. Menurut Sastrohamidjojo (1991) Panjang gelombang maksimum pada tanin yaitu satu pita serapan pada panjang gelombang 300–550 nm. Jaya, *et al* (2012) mengatakan bahwa serapan tanin pada ekstrak produk teh hitam terdapat pada panjang gelombang 290 nm. Selain itu, Makatamba, *et al* (2020) menjelaskan adanya serapan senyawa tanin dari fraksi buah sirih pada panjang gelombang 282 nm.

Ekstrak etanol buah lerak memiliki panjang gelombang maksimum 275 dan 302,9 nm serta pada fraksi etil asetat memiliki panjang gelombang maksimum 247 nm yang diduga merupakan golongan senyawa metabolit sekunder flavonoid. Serapan 275 nm menunjukkan adanya transisi elektron  $\pi \rightarrow \pi^*$  menunjukkan gugus kromofor C=C. Serapan 302,9 nm akibat transisi elektron  $\eta \rightarrow \pi^*$  menunjukkan gugus kromofor C=O. Spektrum flavonoid menunjukkan 2 puncak serapan pada panjang gelombang 240–285 nm (puncak II) dan 300–550 nm (Puncak I) (Markham, 1988).

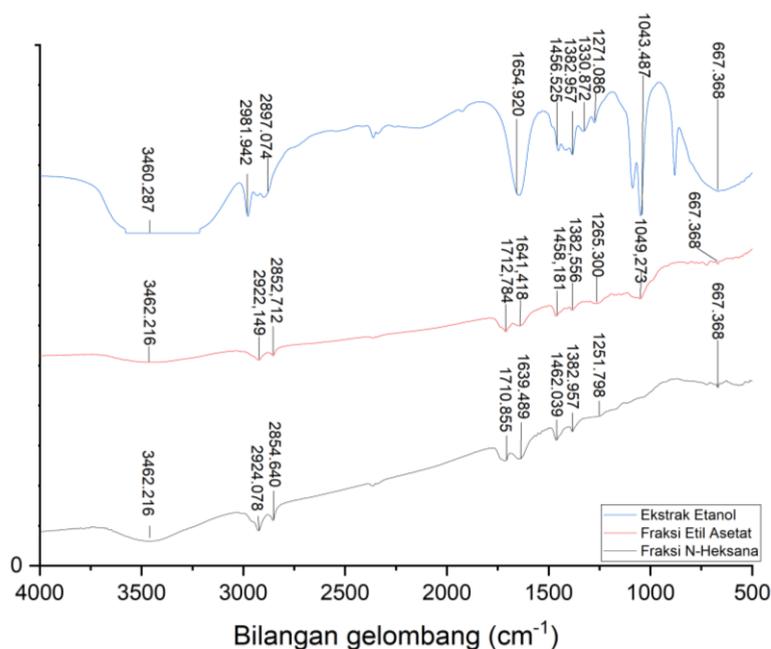
Ekstrak etanol buah lerak memiliki panjang gelombang maksimum 211,9 nm yang diduga merupakan golongan senyawa saponin. Serapan pada panjang gelombang 211,9 akibat transisi elektron  $\pi \rightarrow \pi^*$  karena adanya ikatan rangkap C=C. Rachman (2015) memperoleh serapan saponin pada panjang gelombang 211.

Ekstrak etanol dan fraksi etil asetat buah lerak memiliki serapan pada panjang gelombang 208. Selain itu, pada fraksi n-heksana memiliki serapan pada panjang gelombang 203 yang mengindikasikan adanya transisi elektron  $\pi \rightarrow \pi^*$

menunjukkan adanya gugus kromofor khas pada sistem ikatan rangkap C=C tak terkonjugasi. Serapan pada panjang gelombang 208 dan 203 nm mengindikasikan ciri khas serapan triterpenoid. Latief, *et al* (2022) mengisolasi senyawa triterpenoid dari ekstrak etanol daun *A. ilicifolius* didapatkan serapan pada panjang gelombang 208 dan 230 mengindikasikan adanya serapan golongan non aromatik triterpenoid dimana terdapat ikatan rangkap cincin aromatik. Huda (2019) memperoleh serapan triterpenoid dari alga merah pada panjang gelombang 203 nm.

#### 4.5 Identifikasi menggunakan FTIR

FTIR (*Fourier Transform Infra-red*) digunakan untuk mengidentifikasi gugus fungsi senyawa dari bilangan gelombang yang terbaca akibat vibrasi molekul. Ekstrak etanol fraksi etil asetat, dan fraksi n-heksana buah lerak dilakukan identifikasi gugus fungsi senyawa menggunakan FTIR. Hasil FTIR ekstrak etanol, fraksi etil asetat, dan fraksi n-heksana ditunjukkan pada Gambar 4.12.



Gambar 4. 13 Hasil Spektra FTIR

**Tabel 4. 4** Hasil Identifikasi Senyawa Menggunakan FTIR

Bilangan Gelombang (cm <sup>-1</sup> )			Range (cm <sup>-1</sup> ) Pustaka (Socrates, 1994)	Gugus Fungsi
Ekstrak Etanol	Fraksi Etil Asetat	Fraksi n- Heksana		
3460,287	3462,261	3462,216	3550-3230	O-H ( <i>stretch</i> )
2981,942	2922,149	2924,078	3000-2800	-CH <sub>3</sub> <i>stretch asym</i> (alkana)
2897,074	2852,712	2854,640	2880-2835	-CH <sub>2</sub> - <i>stretch sym</i>
-	1712,784	1710,855	1850-1550	-C=O ( <i>stretch</i> )
1654,920	1641,418	1639,489	1660-1580	C=C <i>stretch</i> <i>aromatic</i>
1456,525	1458,181	1462,039	1465-1440	C-H pada CH <sub>2</sub> ( <i>bending</i> ) asimetri
1382,957	1382,556	1382,957	1390-1370	C-H pada CH <sub>3</sub> ( <i>bending</i> ) simetri
1330,872	-	-	1360-1250	=C-N ( <i>aromatic</i> <i>amine</i> )
1271,086	1265,300	1251,798	1300-1180	C-O-C
1043,487	1049,273	-	1085-1030	C-O <i>stretch</i>
667,368	667,368	667,368	900-650	=C-H <i>bending</i>

Hasil interpretasi menunjukkan bahwa ekstrak etanol, fraksi etil asetat, dan fraksi n-heksana buah lerak memiliki serapan yang melebar berturut-turut pada bilangan gelombang 3460,287; 3462,261; dan 3462,261 cm<sup>-1</sup> yang mengindikasikan serapan ulur gugus fungsi O-H. Gugus O-H merupakan gugus fungsi yang dapat dimiliki oleh senyawa metabolit sekunder seperti fenol, tanin, flavonoid, saponin, dan triterpenoid. Oleh karena itu, berdasarkan hasil fitokimia keberadaan gugus O-H pada ekstrak etanol terdapat pada golongan senyawa fenol, tanin, flavonoid, saponin, dan triterpenoid; pada fraksi etil asetat terdapat pada fenol, flavonoid, dan triterpenoid; serta pada fraksi n-heksana terdapat pada senyawa fenol, tanin, dan triterpenoid.

Pada ekstrak etanol, fraksi etil asetat, dan fraksi n-heksana terdapat serapan 2981,942; 2922,149; dan 2924,078 cm<sup>-1</sup> yang menunjukkan adanya serapan ulur

(*stretching*)  $-\text{CH}_3$  atau C-H alifatik  $\text{sp}^3$  dimana diperkuat dengan serapan pada bilangan gelombang 1382,957; 1382,556; dan 1382,957  $\text{cm}^{-1}$  merupakan serapan C-H bending *scissoring* untuk gugus  $\text{CH}_3$ . Selain itu, terdapat serapan pada bilangan gelombang 2897,074; 2852,712 dan 2854,640  $\text{cm}^{-1}$  yang menunjukkan adanya gugus  $\text{CH}_2$  *stretching sym* dan ditunjang dengan serapan pada 1456,525; 1458,181; dan 1462,039  $\text{cm}^{-1}$  yang menunjukkan tekukan C-H pada  $\text{CH}_2$  *bending*. Gugus tersebut umumnya dimiliki oleh senyawa golongan triterpenoid dan saponin. Berdasarkan hasil fitokimia, serapan gugus  $\text{CH}_3$  pada ekstrak etanol diduga terdapat pada golongan saponin dan triterpenoid. Sedangkan pada fraksi etil asetat dan n-heksana dimiliki oleh golongan senyawa triterpenoid.

Fraksi etil asetat dan fraksi n-heksana buah lerak terdapat serapan pada bilangan gelombang 1712,784; dan 1710,855  $\text{cm}^{-1}$  yang merupakan serapan dari gugus fungsi C=O *stretching*. Gugus C=O merupakan gugus fungsi yang umum terdapat pada senyawa flavonoid dan tanin. Berdasarkan hasil fitokimia gugus tersebut diduga dimiliki oleh golongan senyawa flavonoid yang terkandung pada fraksi etil asetat dan golongan tanin yang terkandung pada fraksi n-heksana.

Pada ekstrak etanol, fraksi etil asetat, dan fraksi n-heksana terdapat serapan 1654,920; 1641,418; 1639,489  $\text{cm}^{-1}$  yang menunjukkan uluran (*stretching*) C=C aromatik dan diperkuat dengan serapan pada 667,368; 667,368; dan 667,368  $\text{cm}^{-1}$  yang merupakan tekukan =C-H *rocking/wagging*. Gugus C=C aromatik terdapat pada golongan senyawa flavonoid, fenol, tannin, saponin, dan triterpenoid. Oleh karena itu, berdasarkan hasil fitokimia keberadaan gugus tersebut pada ekstrak etanol terdapat pada golongan flavonoid, fenol, tanin, saponin, dan triterpenoid;

pada fraksi etil asetat dimiliki golongan flavonoid, fenol dan triterpenoid; serta pada fraksi n-heksana dimiliki golongan fenol, tanin, dan triterpenoid.

Ekstrak etanol buah lerak terdapat serapan pada bilangan gelombang  $1330,876\text{ cm}^{-1}$  yang menunjukkan serapan gugus  $=\text{C-N}$  aromatik amina. Gugus tersebut merupakan gugus khas yang dimiliki golongan senyawa alkaloid. Berdasarkan hasil fitokimia diketahui gugus  $\text{C=N}$  dimiliki oleh golongan senyawa alkaloid yang terkandung pada ekstrak etanol.

Serapan  $1043,487$ ; dan  $1049,273\text{ cm}^{-1}$  pada ekstrak etanol dan fraksi etil asetat mengindikasikan adanya serapan ulur  $\text{C-O}$ . Gugus  $\text{C-O}$  umumnya terdapat pada golongan senyawa alkaloid, saponin, dan triterpenoid. Berdasarkan hasil fitokimia, diduga gugus  $\text{C-O}$  pada ekstrak etanol dimiliki golongan senyawa alkaloid, saponin, dan triterpenoid. Sedangkan, pada fraksi etil asetat diduga gugus  $\text{C-O}$  terdapat pada golongan triterpenoid.

Pada ekstrak etanol, fraksi etil asetat, dan fraksi n-heksana terdapat serapan  $1271,086$ ;  $1265,300$ ; dan  $1251,798\text{ cm}^{-1}$  yang menunjukkan adanya gugus  $\text{C-O-C}$ . Gugus  $\text{C-O-C}$  umumnya terdapat pada golongan senyawa flavonoid, tanin, dan saponin. Berdasarkan hasil uji fitokimia, gugus  $\text{C-O-C}$  pada ekstrak etanol diduga dimiliki golongan flavonoid, tanin, dan saponin; pada fraksi etil asetat dimiliki golongan flavonoid; serta pada fraksi n-heksana dimiliki golongan tanin.

#### **4.6 Uji Aktivitas Antibakteri Buah Lerak (*Sapindus rarak*)**

Uji aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan metode difusi agar. Prinsip kerja metode ini yaitu terdifusinya suatu senyawa antimikroba ke dalam media padat yang telah diinokulasikan mikroba uji misalnya bakteri. Penghambatan

antibiotik terhadap tumbuhnya mikroba dapat diamati melalui zona bening di area tumbuhnya mikroba (Husein dan Wardhani, 2021). Semakin besar zona bening yang terbentuk, maka semakin besar pula kekuatan sampel tersebut sebagai zat antibakteri. Morales (2003) menjelaskan kriteria kekuatan daya antibakteri pada diameter zona hambat 6 mm atau kurang dikategorikan lemah, zona hambat 6–10 mm sedang, zona hambat 11–20 mm kuat, dan zona hambat 21–30 mm dikategorikan sangat kuat.

Pengujian antibakteri dengan difusi cakram dilakukan dengan 4 variasi konsentrasi yaitu A (larutan induk= 1 g ekstrak dilarutkan 1 mL DMSO), B (0,5 mL larutan induk ditambahkan 0,5 mL DMSO), C (0,5 mL larutan B ditambahkan 0,5 mL DMSO), dan D (0,5 mL larutan C ditambahkan 0,5 mL DMSO) untuk mengetahui pengaruh konsentrasi dan jenis ekstrak terhadap pertumbuhan bakteri yaitu bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan kontrol positif kloramfenikol dan kontrol negatif DMSO. Hasil uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* ditunjukkan pada Tabel 4.5

**Tabel 4. 5** Hasil Uji Aktivitas Antibakteri terhadap Bakteri *Escherichia coli*

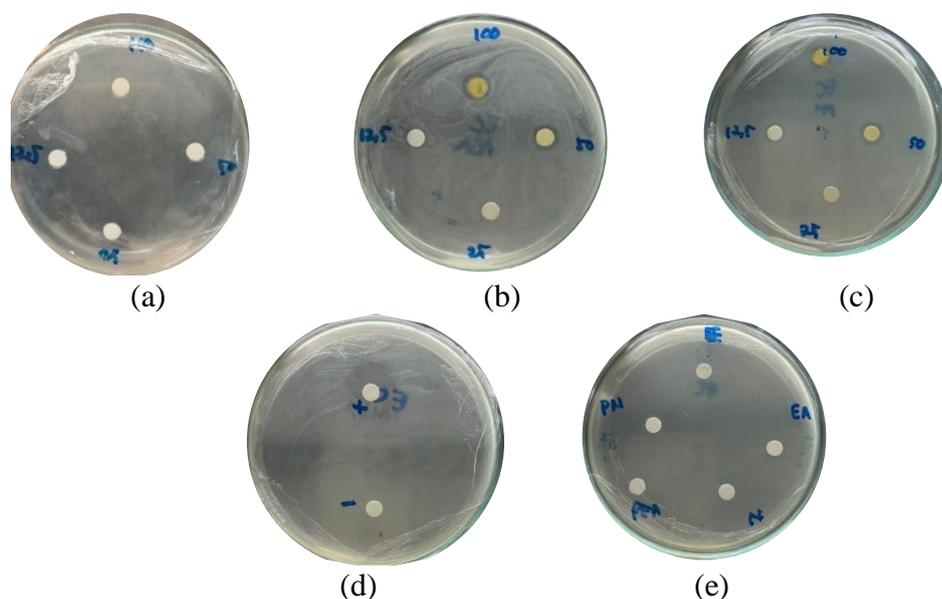
Konsentrasi	Zona Hambat (mm)		
	Ekstrak Etanol	Fraksi Etil Asetat	Fraksi n-Heksana
A	1,3	1,77	2,12
B	1,62	2,1	2,87
C	2,43	2,52	3,58
D	3,18	3,95	4,68
Kontrol positif (kloramfenikol 12,5%)		14,25	
Kontrol negatif (DMSO)		0	
Kontrol pelarut	0	0	0

Keterangan=A: Larutan induk = 1 g ekstrak dilarutkan 1 mL DMSO

B: 0,5 mL larutan induk ditambahkan 0,5 mL DMSO

C: 0,5 mL larutan B ditambahkan 0,5 mL DMSO

D: 0,5 mL larutan C ditambahkan 0,5 mL DMSO



Gambar 4. 14 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap *E. coli* a)Ekstrak Etanol; b)Fraksi Etil Asetat; c)Fraksi n-Heksana; d)Kontrol positif dan Negatif; e)Kontrol Pelarut

**Tabel 4. 6** Hasil Uji BNJ variasi pelarut pada bakteri *Escherichia coli*

Pelarut	Notasi
Etanol	a
Etil Asetat	b
n-Heksana	c

**Tabel 4. 7** Hasil Uji BNJ variasi konsentrasi pada bakteri *Escherichia coli*

Konsentrasi	Notasi
D	a
C	a
B	b
A	c

Keterangan=A: Larutan induk = 1 g ekstrak dilarutkan 1 mL DMSO

B: 0,5 mL larutan induk ditambahkan 0,5 mL DMSO

C: 0,5 mL larutan B ditambahkan 0,5 mL DMSO

D: 0,5 mL larutan C ditambahkan 0,5 mL DMSO

Hasil uji F variasi jenis pelarut buah pada bakteri *Escherichia coli* memiliki nilai F hitung > F tabel ( $37,725 > 3,4028$ ) dengan uji probabilitas dimana nilai sig ( $0,000$ ) < alpha ( $0,05$ ), sedangkan pengaruh variasi konsentrasi menunjukkan nilai Fhitung > Ftabel ( $62,750 > 3,0088$ ) dengan uji probabilitas nilai sig ( $0,000$ ) < nilai

alpha (0,05). Sedangkan pengaruh variasi interaksi konsentrasi dengan pelarut menunjukkan nilai  $F_{hitung} < F_{tabel}$  ( $0,666 < 2,2163$ ) dengan uji probabilitas nilai  $sig$  ( $0,678 > \alpha$  (0,05)). Hasil uji Two Way-ANOVA menunjukkan pada variasi pelarut dan konsentrasi terhadap bakteri *Escherichia coli* memiliki pengaruh yang signifikan pada zona hambat yang dihasilkan. Namun pada interaksi variasi pelarut dengan konsentrasi pada bakteri *Escherichia coli* tidak berpengaruh nyata terhadap hasil zona hambat.

Hasil uji ANOVA diuji lebih lanjut dengan uji Beda Nyata Jujur (BNJ) untuk mengetahui variasi yang paling mempengaruhi untuk hasil aktivitas antibakteri terhadap bakteri uji. Tabel 4.6 menunjukkan perbedaan notasi pada hasil uji BNJ mengindikasikan adanya pengaruh yang signifikan pada setiap variasi. Variasi pelarut menunjukkan adanya perbedaan notasi yang menunjukkan bahwa variasi pelarut memiliki pengaruh yang signifikan antara satu sama lain pada hasil zona hambat. Selain itu, Tabel 4.8 menunjukkan variasi konsentrasi A dan B memberikan pengaruh yang signifikan pada hasil zona hambat untuk bakteri *Escherichia coli*. Namun, pada konsentrasi D dan C tidak menunjukkan perbedaan yang nyata terhadap zona hambat yang dihasilkan.

Tabel 4.5 menunjukkan bahwa ekstrak/fraksi buah lerak memiliki aktivitas antibakteri dimana diperoleh meningkatnya rata-rata zona hambat seiring dengan peningkatan konsentrasi. Pada ekstrak etanol, fraksi etil asetat, dan fraksi n-heksana diperoleh zona hambat secara berturut-turut pada konsentrasi A adalah 3,18 mm; 3,95 mm; dan 4,68 mm. Berdasarkan Morales (2003) aktivitas antibakteri tertinggi ekstrak/fraksi buah lerak pada bakteri *Escherichia coli* lemah ( $<6$  mm).

Aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* adalah fraksi n-heksana > fraksi etil asetat > ekstrak etanol buah lerak yang ditunjukkan oleh nilai zona hambat yang dihasilkan. Hal ini dapat dipengaruhi oleh kandungan senyawa metabolit sekunder di dalam ekstrak. Fraksi n-heksana memiliki aktivitas yang lebih tinggi dimungkinkan karena senyawa-senyawa aktif di dalam ekstrak n-heksana yaitu fenol tanin dan triterpenoid dengan mekanisme kerja masing-masing bekerja secara sinergis terhadap bakteri. Menurut Sitorus, *et al* (2020) kombinasi senyawa dalam ekstrak dapat dimungkinkan bekerja secara sinergis, sehingga memberikan zona hambat bakteri yang lebih besar.

Senyawa metabolit sekunder memiliki mekanisme penghambatan bakteri yang berbeda-beda. Pada triterpenoid mampu bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar sel bakteri dengan membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga berakibat pada rusaknya porin sebagai pintu keluar masuknya nutrisi sel bakteri (Robinson 1995). Senyawa fenolik mengganggu kerja bakteri dengan mempresipitasi sel sehingga terjadi lisis (Yumas, 2017). Tanin mampu mengkerutkan membran sel sehingga permeabilitas sel terganggu (Ajizah, 2018).

Aktivitas antibakteri yang lebih tinggi pada fraksi n-heksana buah lerak dipengaruhi pula oleh sifat senyawa dan sifat dinding sel bakteri *Escherichia coli*. Pada fraksi n-heksana menggunakan pelarut nonpolar untuk mengekstrak senyawa sehingga senyawa yang terekstrak di dalamnya cenderung bersifat nonpolar. Bakteri Gram negatif seperti *Escherichia coli* memiliki 3 lapisan (lipoprotein, lapisan tengah, dan lipopolisakarida) dan peptidoglikan dengan kandungan lipid yang tinggi (11-12%) (Jawetz, 2005). Sehingga senyawa nonpolar pada fraksi n-heksana dengan mudah masuk dan menghambat bakteri *Escherichia coli*. Liswandari *et al.*,

(2018) menjelaskan bakteri *Escherichia coli* memiliki dinding sel bakteri yang bersifat nonpolar mengakibatkan dinding sel mudah ditembus dan dirusak senyawa nonpolar dan semi polar.

Kontrol negatif dalam penelitian ini adalah DMSO dimana hasil menunjukkan tidak terbentuk zona hambat. DMSO adalah salah satu pelarut yang mampu melarutkan hampir semua senyawa polar atau non-polar. DMSO merupakan pelarut organik yang tidak memiliki sifat bakterisidal (Assidqi *et al.*, 2012). DMSO tidak memiliki aktivitas antibakteri, sehingga aktivitas antibakteri yang dihasilkan murni dari senyawa pada ekstrak yang diuji (Amalia *et al.*, 2014).

Kontrol positif kloramfenikol menghasilkan zona hambat yang paling besar dikarenakan kloramfenikol merupakan antibiotik spektrum luas mampu menghambat bakteri Gram positif dan negatif (Pelczar dan Chan, 2008). Mekanisme kloramfenikol untuk menghambat bakteri yaitu bergabung dengan subunit ribosom (Pelczar dan Chan, 1988).

**Tabel 4. 8** Hasil Uji Aktivitas Antibakteri terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*

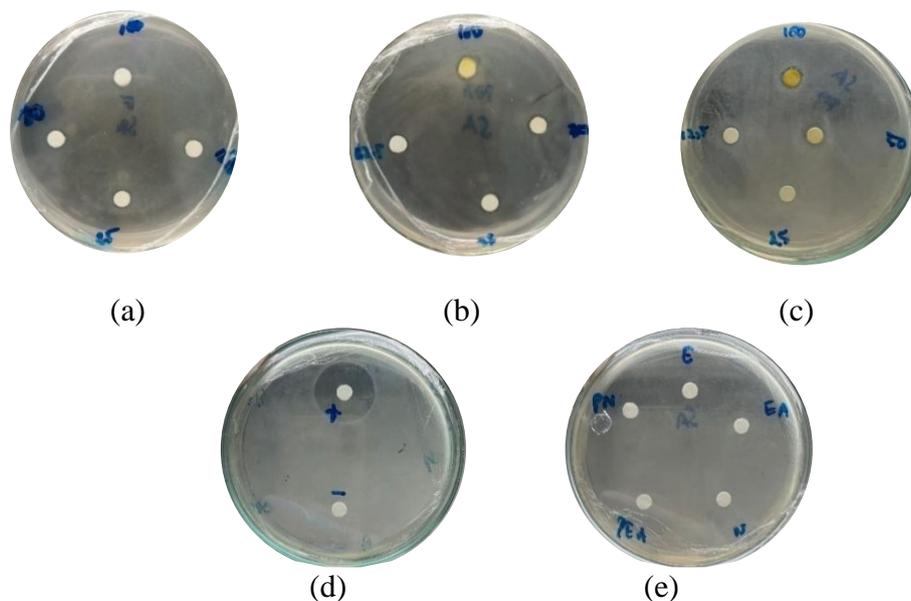
Konsentrasi	Zona Hambat (mm)		
	Ekstrak Etanol	Fraksi Etil Asetat	Fraksi n-Heksana
D	1,08	1,53	1,23
C	1,42	2,12	1,57
B	2,27	2,52	2,37
A	3,25	3,67	3,43
Kontrol positif (kloramfenikol 12,5%)		19,67	
Kontrol negatif (DMSO)		0	
Kontrol pelarut	0	0	0

Keterangan=A: Larutan induk = 1 g ekstrak dilarutkan 1 mL DMSO

B: 0,5 mL larutan induk ditambahkan 0,5 mL DMSO

C: 0,5 mL larutan B ditambahkan 0,5 mL DMSO

D: 0,5 mL larutan C ditambahkan 0,5 mL DMSO



Gambar 4. 15 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol *S. aureus* a)Ekstrak Etanol; b)Fraksi Etil Asetat; c)Fraksi n-Heksana; d)Kontrol positif dan Negatif; e)Kontrol Pelarut.

**Tabel 4. 9** Hasil Uji BNJ variasi pelarut pada bakteri *Staphylococcus aureus*

Pelarut	Notasi
Etanol	a
Etil Asetat	b
n-Heksana	ab

**Tabel 4. 10** Hasil Uji BNJ variasi konsentrasi pada bakteri *Staphylococcus aureus*

Konsentrasi	Notasi
D	a
C	a
B	b
A	c

Keterangan=A: Larutan induk = 1 g ekstrak dilarutkan 1 mL DMSO

B: 0,5 mL larutan induk ditambahkan 0,5 mL DMSO

C: 0,5 mL larutan B ditambahkan 0,5 mL DMSO

D: 0,5 mL larutan C ditambahkan 0,5 mL DMSO

Hasil uji *Two Way* Anova variasi jenis pelarut buah lerak (*Sapindus rarak*) pada bakteri *Staphylococcus aureus* memiliki nilai F hitung > F tabel (4,003 > 3,4028) dengan uji probabilitas dimana nilai sig (0,032) < alpha (0,05), sedangkan pengaruh variasi konsentrasi menunjukkan nilai Fhitung > Ftabel (45,155 > 3,0088) dengan uji probabilitas nilai sig (0,000) < nilai alpha (0,05). Sedangkan pengaruh variasi interaksi konsentrasi dengan pelarut menunjukkan nilai Fhitung < Ftabel

( $0,173 < 2,2163$ ) dengan uji probabilitas nilai sig ( $0,982$ )  $>$  alpha ( $0,05$ ). Hasil uji *Two Way*-ANOVA menunjukkan bahwa pada hasil uji aktivitas antibakteri dengan variasi pelarut dan variasi konsentrasi terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* memiliki pengaruh yang signifikan pada zona hambat yang dihasilkan. Namun, pada interaksi pelarut dengan konsentrasi tidak berpengaruh nyata terhadap hasil zona hambat.

Pada Hasil uji BNP terdapat perbedaan notasi pada variasi pelarut pada bakteri *Staphylococcus aureus* yang menunjukkan adanya pengaruh yang signifikan variasi pelarut etanol dan etil asetat terhadap zona hambat yang dihasilkan. Namun, pada variasi n-heksana tidak terdapat perbedaan hasil yang signifikan dengan pelarut etanol dan etil asetat. Pada variasi konsentrasi A dan B memberikan pengaruh yang signifikan pada hasil zona hambat sedangkan pada konsentrasi D dan C tidak menunjukkan pengaruh yang signifikan terhadap zona hambat yang dihasilkan pada bakteri *Staphylococcus aureus*.

Hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa ekstrak dan fraksi buah lerak memiliki aktivitas antibakteri. Aktivitas antibakteri pada ekstrak etanol, fraksi etil asetat, dan fraksi n-heksana mengalami peningkatan sejalan dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak yang ditunjukkan pada konsentrasi A secara berturut-turut didapatkan zona hambat 3,18 mm; 3,67 mm; dan 3,43 mm. Kekuatan aktivitas antibakteri tertinggi ekstrak/fraksi buah lerak terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* termasuk lemah ( $<6$  mm).

Berdasarkan Tabel 4.8 diketahui aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* adalah fraksi etil asetat  $>$  fraksi n-heksana  $>$  ekstrak etanol buah lerak yang ditunjukkan nilai zona hambat yang dihasilkan. Hal ini dapat

dipengaruhi oleh senyawa yang terkandung dalam ekstrak. Aktivitas antibakteri fraksi etil asetat lebih besar daripada ekstrak etanol dan fraksi n-heksana karena senyawa aktif seperti fenol, flavonoid, dan triterpenoid pada fraksi etil asetat dimungkinkan dengan mekanisme kerja masing–masing bekerja secara sinergis menghambat *Staphylococcus aureus*.

Mekanisme kerja senyawa golongan triterpenoid sebagai antibakteri terhadap *S. aureus* dengan cara peningkatan lipofilisitas. Lipofilisitas merupakan kelarutan dan kemampuan berinteraksi dengan daerah hidrofobik. Selain itu, senyawa mengganggu transportasi zat yang menyebabkan penghambatan sintesis makromolekul. Terjadi juga gangguan membran sitoplasma yang sering ditandai dengan kebocoran intraseluler (De León, *et al.*, 2010). Flavonoid dapat membentuk kompleks dengan protein ekstraseluler dan merusak membran sel bakteri diikuti keluarnya zat-zat intraseluler (Amalia, *et al.*, 2018). Senyawa fenol dapat mendenaturasi protein sel yang berakibat terhentinya semua aktivitas metabolisme sel bakteri (Marfuah, *et al.*, 2018).

Aktivitas antibakteri yang tinggi pada fraksi n-heksana buah lerak terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* juga dipengaruhi oleh struktur dinding sel pada bakteri dan sifat pelarut yang digunakan. Dinding sel pada bakteri Gram positif umumnya tersusun dari polisakarida (peptidoglikan, asam teikoat dan asam teikuronat) (Saputri, *et al.*, 2019). Lestari (2021) menjelaskan bahwa dinding sel bakteri Gram positif memiliki permeabilitas bakteri yang rendah. Oleh karena itu, senyawa aktif pada fraksi etil asetat yang umumnya semipolar mampu menembus membran sel sehingga merusak dinding sel dan berujung kematian sel bakteri.

Berdasarkan Tabel 4.5 dan 4.8 diketahui bahwa aktivitas antibakteri fraksi etil asetat dan fraksi n-heksana hasil hidrolisis buah lerak lebih besar dibandingkan dengan ekstrak etanol terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Hal ini menunjukkan adanya proses hidrolisis dan partisi dapat meningkatkan aktivitas antibakteri. Fraksi memiliki senyawa metabolit yang lebih spesifik dan murni daripada ekstrak kasar karena telah melalui pemutusan ikatan glikosida sehingga terbebas dari gugus gula (glikon) yang biasanya terikat pada bahan alam. Gazali, *et al* (2016) menjelaskan proses hidrolisis dilakukan untuk memisahkan glikon dan aglikonnya sehingga diperoleh senyawa yang lebih murni.

Berdasarkan hasil uji antibakteri pada *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* diperoleh bahwa ekstrak etanol buah lerak memiliki zona hambat yang lebih besar terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Sedangkan pada fraksi etil asetat dan fraksi n-heksana buah lerak memiliki aktivitas antibakteri yang lebih besar terhadap bakteri *Escherichia coli*. Hal ini memperlihatkan bahwa masing-masing ekstrak/fraksi buah lerak memiliki aktivitas antibakteri yang sensitif terhadap jenis bakteri tertentu.

#### **4.7 Prespektif Pemanfaatan Buah Lerak dalam Islam**

Allah menciptakan alam semesta begitu luar biasa. Dalam ayat-ayat Al-Qur'an juga telah dijelaskan berbagai ciptaan Allah Swt yang menjadi bukti keagungan dan kebesaran-Nya. Salah satunya tumbuhan di sekitar kita. Tumbuhan diciptakan Allah Swt agar dapat diambil manfaatnya. Sebagaimana Firman-Nya dalam Q.S 'Abasa ayat 25-32 sebagai berikut

أَنَا صَبَبْنَا الْمَاءَ صَبًّا ۝١٥ ثُمَّ شَقَقْنَا الْأَرْضَ شَقًّا ۝١٦ فَأَنْبَتْنَا فِيهَا حَبًّا ۝١٧ وَعِنَبًا ۝١٨ وَقَضْبًا ۝١٩ وَزَيْتُونًا وَنَخْلًا ۝٢٠ وَحَدَائِقَ غُلْبًا ۝٢١ وَفَاكِهَةً وَأَبًّا ۝٢٢ مَتَاعًا لَكُمْ وَلِأَنْعَامِكُمْ ۝٢٣

﴿٢٣﴾

*Artinya: "Sesungguhnya Kami telah mencurahkan air (dari langit) dengan berlimpah. Kemudian, Kami belah bumi dengan sebaik-baiknya. Lalu, Kami tumbuhkan padanya biji-bijian, anggur, sayur-sayuran, zaitun, pohon kurma, kebun-kebun (yang) rindang, buah-buahan, dan rerumputan. (Semua itu disediakan) untuk kesenanganmu dan hewan-hewan ternakmu" (Q.S. 'Abasa: 25-32)*

Selain itu Ibnu Katsir (2016) juga menjelaskan bahwa Allah Swt membuktikan kuasa-Nya dengan menghidupkan tanah dengan menumbuhkan tumbuh-tumbuhan melalui air hujan yang diturunkan-Nya. Aneka tumbuhan terhampar di muka bumi yang sedemikian banyak dan bermanfaat dengan beragam jenis biji-bijian, anggur, sayuran, kurma, pepohonan yang rindang, buah-buahan, dan rerumputan. Kata غُلْبًا disini ditafsirkan sebagai pepohon yang lebat lagi rapat dengan tumbuhan yang tinggi sehingga dapat dijadikan tempat bernaung. Melalui ayat ini manusia sebagai makhluk Allah diminta meluaskan pandangan dengan ilmu pengetahuan untuk mempelajari apa-apa saja yang ada di bumi termasuk mengenai aneka tumbuhan dan kemanfaatan yang terdapat di dalamnya. Salah satu bentuk kebesaran Allah yang dapat dipelajari adalah buah dari pohon dengan daun yang rindang seperti lerak.

Lerak (*Sapindus rarak*) merupakan tumbuhan dimana bagian buahnya sering dimanfaatkan sebagai deterjen tradisional. Tanaman lerak tumbuh liar di pulau Jawa. Buahnya sering digunakan untuk mencuci kain batik karena dianggap paling sesuai untuk menjaga kualitas warna batik. Selain itu, buah lerak dimanfaatkan sebagai pembersih lantai dan pembersih perabot rumah tangga. Lerak

juga berguna sebagai insektisida alami dan airnya sebagai penghilang kutu untuk hewan peliharaan (Moenandar, *et al.*, 2021). Di sisi lain buah lerak juga memiliki aktivitas farmakologi yaitu sebagai antibakteri (Putri, *et al.*, 2018). Manfaat tanaman dijelaskan oleh Allah SWT dalam surat az Zumar ayat 21:

أَلَمْ تَرَ أَنَّ اللَّهَ أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَسَلَكَهُ يَنَابِيعَ فِي الْأَرْضِ ثُمَّ يُخْرِجُ بِهِ زُرْعًا مُخْتَلِفًا  
أَلْوَانَهُ ثُمَّ يَهَيِّجُ فَتْرَهُ مُمْصَفًا ثُمَّ يَجْعَلُهُ حُطَامًا إِنَّ فِي ذَلِكَ لَذِكْرًا لِأُولِي الْأَلْبَابِ ﴿٢١﴾

*Artinya: "Tidakkah engkau memperhatikan bahwa Allah menurunkan air (hujan) dari langit, lalu Dia mengalirkannya menjadi sumber-sumber air di bumi. Kemudian, dengan air itu Dia tumbuhkan tanam-tanaman yang bermacam-macam warnanya, kemudian ia menjadi kering, engkau melihatnya kekuning-kuningan, kemudian Dia menjadikannya hancur berderai. Sesungguhnya pada yang demikian itu benar-benar terdapat pelajaran bagi ululalbab" (Q.S. az-Zumar: 21)*

Dalam ayat tersebut terdapat kata زُرْعًا yang berarti tanaman-tanaman, مُخْتَلِفًا yang artinya bermacam-macam serta أَلْوَانُهُ berarti warna. Ayat di atas mengemukakan salah satu bukti tentang kuasa-Nya dengan menurunkan air hujan dari langit sehingga tumbuh tanaman-tanaman yang jenis, bentuk, rasa dan warnanya beraneka ragam yang menjadikannya memiliki manfaat untuk dipelajari para Ulil Albab (Shihab, 2002). Pada tumbuhan lerak, seringkali bagian buahnya yang dimanfaatkan dan diteliti. Buah yang tua berwarna coklat kehitaman dengan permukaan buah yang licin dan mengkilap. Bijinya keras, bulat dan berwarna hitam, daging buahnya sedikit berlendir, dan mengeluarkan aroma wangi. buah, kulit batang, biji, dan daun tanaman lerak mengandung saponin, alkaloid, steroid, antikuinon, flavonoid, polifenol, dan tanin (Fatmawati, 2014). Berdasarkan kandungan tersebut buah lerak memiliki aktivitas farmakologi dimana dijelaskan dalam surat al An'am ayat 27:

وَإِنْ يَمَسُّكَ اللَّهُ بِضُرٍّ فَلَا كَاشِفَ لَهُ إِلَّا هُوَ وَإِنْ يَمَسُّكَ بِخَيْرٍ فَهُوَ عَلَىٰ كُلِّ شَيْءٍ

قَدِيرٌ ﴿١٧﴾

*Artinya: “Jika Allah menimpakan kemudharatan kepadamu, tidak ada yang dapat menghilangkannya selain Dia; dan jika Dia memberikan kebaikan kepadamu, Dia Mahakuasa atas segala sesuatu” (Q.S al-An’am: 17)*

Ayat tersebut menerangkan bahwa ketika Allah menimpakan suatu kemudharatan (musibah) kepada makhluk-Nya, seperti kemiskinan atau sakit maka tidak ada yang mampu mengangkatnya kecuali Allah SWT. Begitupun sebaliknya, apabila kebaikan seperti kesehatan diberikan maka atas kuasa-Nya tidak ada yang mampu menolaknya selain dari-Nya sendiri (Jalalain, 2016).

Berdasarkan penjelasan ayat di atas maka segala penyakit pasti ada obatnya dan atas izin Allah dapat diketahui penawarnya salah satunya melalui penciptaan tumbuhan. Manusia sebagai khalifah di muka bumi dapat belajar mengetahui potensi tumbuhan sebagai obat. Salah satu penyakit manusia dapat disebabkan oleh bakteri sehingga penelitian mengenai zat antimikroba terus dilakukan. Beberapa penelitian telah melakukan uji aktivitas pada buah lerak sebagai antibakteri. Endrowahyudi, *et al* (2021) mengatakan ekstrak lerak dapat menghambat *E. faecalis* oleh saponin, senyawa alkaloid, polifenol, senyawa antioksidan, dan kelompok flavonoid, serta tanin. Oleh karena itu penelitian mengenai buah lerak ini sebagai pengembangan untuk mengetahui adanya senyawa aktif yang berpotensi sebagai zat antibakteri penghambat bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* sehingga di kemudian hari dapat dikembangkan menjadi obat dari suatu penyakit.

## **BAB V**

### **PENUTUP**

#### **5.1 Kesimpulan**

1. Hasil uji fitokimia menunjukkan keberadaan golongan senyawa pada ekstrak etanol, fraksi etil asetat, dan fraksi n-heksana. Ekstrak etanol mengandung alkaloid, fenol, tanin, flavonoid, saponin, dan triterpenoid. Fraksi etil asetat mengandung fenol, flavonoid, dan triterpenoid. Pada fraksi n-heksana diduga mengandung fenol, tanin, dan triterpenoid. Data spektrofotometri UV-Vis dan FTIR mendukung hasil uji fitokimia.
2. Ekstrak etanol, fraksi etil asetat dan n-heksana hasil ekstraksi sonikasi buah lerak (*Sapindus rarak*) menunjukkan aktivitas antibakteri pada *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dengan kategori lemah. Zona hambat ekstrak/fraksi tercatat pada ekstrak etanol 3,18 mm, fraksi etil asetat 3,95 mm, dan fraksi n-heksana 4,68 mm pada *Escherichia coli*. Sedangkan pada *Staphylococcus aureus* tercatat zona hambat ekstrak etanol 3,25 mm, fraksi etil asetat 3,67 mm, dan fraksi n-heksana 3,43 mm.

#### **5.2 Saran**

1. Pemisahan golongan senyawa aktif lebih spesifik dengan kromatografi lapis tipis (KLT) dan pemurnian lebih lanjut menggunakan GC-MS atau LC-MS, serta identifikasi NMR untuk mengetahui senyawa aktif buah lerak.
2. Perlu dilakukan penelitian sejenis menggunakan metode uji bakteri yang lain seperti metode delusi dan sumuran untuk mengetahui kemampuan buah lerak sebagai zat antibakteri

## DAFTAR PUSTAKA

- Abdallah, H.H., Janez, M., Matej, R., Vannajan, S.L., Habibah, A.W., (2012), Chemical Reaction of Soybean Flavonoids with DNA: A Computational Study Using the Implicit Solvent Model, *International Journal of Molecular Sciences*, 1269-1283.
- Afriastini. 1990. *Daftar Jenis Nama Tanaman*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Ajizah, A. (2018). Sensitivitas *Salmonella Typhimurium* Terhadap Ekstrak Daun *Psidium Guajava L.* *Bioscientiae*, 1(1).
- Aliwu, I., Rorong, J. A., & Suryanto, E. (2020). Skrining fitokimia dan uji efek sedatif pelarut dari daun takokak (*Solanum Turvum Swartz*) pada tikus putih galur wistar. *Chemistry Progress*, 13(1).
- Al-Mahalli, Jalaluddin dan Jalaluddin As-Suyuti. 2008, *Tafsir Al-Jalalain, diterjemahkan Bahrin Abubakar, Terjemahan tafsir Jalalain Berikut Asbabun Nuzul, Jilid 1*. Bandung: Penerbit Sinar Baru Algensindo.
- Amalia S, Wahdaningsih S, Untari EK. (2014). Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi n-Heksan Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus Britton & Rose*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Pontianak: Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia*. 2016;1(2):61-64
- Amalia, A., Sari, I., & Nursanty, R. (2018). Aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat daun sembung (*Blumea balsamifera (L.) DC.*) terhadap pertumbuhan bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). In *Prosiding Seminar Nasional Biotik* (Vol. 5, No. 1).
- Anisah, S. Khotimah, dan A.H. Yanti. 2014. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Rimpang Jeringau (*Acorus calamus L.*) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *J. Protobiont*, 3(3):1-5
- Arifin, H. N., Ningsih, R., Fitriyaningsih, A. A., & Hakim, A. (2013). Antibacterial activity test sea cucumber extract (*Holothuria scabra*) Sidayu Coast Gresik using disk diffusion method. *ALCHEMY: Journal of Chemistry*.
- Artati, E. K., Wulandari, F., & Sukma, R. N. (2013). Pengaruh Konsentrasi Katalis Asam dan Kecepatan Pengadukan pada Hidrolisis Selulosa dari Ampas Batang Sorgum Manis. *EKUILIBRIUM*, 12(1), 17-22.
- Aryanti, N., Heny, D. R., & Nafiunisa, A. (2020). Optimization of Ultrasound-Assisted Extraction of Rarak Saponin from *Sapindus rarak* DC. Using

Response Surface Methodology (RSM). *In AIP Conference Proceedings*. Vol. 2197, No. 1,

- Aryanti, N., Nafiunisa, A., Kusworo, T. D., & Wardhani, D. H. (2021). Dye Solubilization Ability of Plant Derived Surfactant from *Sapindus rarak* DC. Extracted with the Assistance of Ultrasonic Waves. *Environmental Technology & Innovation*, 22, 101450.
- Asadi S, Jamali M (2017) Assessment the Frequency of *Staphylococcus aureus* Golden Methicillin-Resistant (MRSA) and *Vancomycin*-Resistant VRSA in Determining the MIC Using E-Test. *Immunol Disord Immunother* 2: 104
- Ashley, K., R.N. Andreas, L. Cavazosa, M. Demage. 2001. Ultrasonic extraction as a sample preparation technique for elemental analysis by atomic spectrometry. *Journal of Analysis Atomic Spectrometry*. 16: 1447-1153
- Assidqi K, Tjahjaningsih W, Sigit S. (2012). Potensi Ekstrak Daun Patikan Kebo (*Euphorbia hirta*) sebagai Antibakteri terhadap *Aeromonas hydrophila* secara In Vitro. *Journal of Marine and Coastal Science*.;1(2):113 –124
- Asyhar, R., & Yulianika, N. (2022). Uji Aktivitas Antioksidan Dari Akar Kancil (*Smilax zeylanica* L.). *Journal of The Indonesian Society of Integrated Chemistry (On Progress)*, 14(2), 109-119.
- Azis, T., Febrizky, S., & Mario, A. D. (2014). Pengaruh Jenis Pelarut Terhadap Persen Yield Keloid Dari Daun Salam India (*Murraya koenigii*). *Jurnal Teknik Kimia*, 20(2).
- Bentrad, N., Gaceb-Terrak, R., Benmalek, Y., & Rahmania, F. (2017). Studies on chemical composition and antimicrobial activities of bioactive molecules from date palm (*Phoenix dactylifera* L.) pollens and seeds. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative Medicines*, 14(3), 242-256.
- Botahala, L., Arifuddin, W., Rahman Arif, A., Arafah, M., Kartina, D., Armah, Z., ... & Hamsah, H. (2020). *Deteksi Dini Metabolit Sekunder pada Tanaman*. Sumatera Barat: C.V Mitra Cendekia Media
- Cahyana, A. H., Maida, M. C., & Ardiansah, B. (2020). Aqueous fraction of *Sapindus rarak* DC fruit extract mediated one-pot three component construction of 9, 9-dimethyl-12-phenyl-9, 10-dihydro-8H-benzo [a] xanthen-11 (12H)-one. In *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering* (Vol. 763, No. 1, p. 012003). IOP Publishing.
- Cahyani, I. 2019. Efek Antibakteri Ekstrak Etanol Lerak (*Sapindus rarak* DC) 12,5% Sebagai Alternatif Pasta Gigi Terhadap Jumlah Bakteri Biofilm Permukaan Gigi (In Vivo). (*Skripsi*). Universitas Sumatera Utara.

- CAMEO Chemicals. 2017. *General Description Of n hexane*. NOAA Cameo Chemicals. United States
- Carson, C. F., Brian, J. M., & Riley, T. V. (2002). Mechanism of action of tea tree oil on *Staphylococcus aureus* determined by time-kill, lyses, leakage, and salt tolerance assays and electron microscopy. *Antimicrobial Agent and Chemotherapy* 6:1914-1920.
- Chaudhary, S. K., Mandal, A. B., Bhar, R., Gopi, M., Kannan, A., Jadhav, S. E., & Rokade, J. J. (2019). Effect of graded levels of soapnut (*Sapindus mukorossi*) shell powder on reproductive performance in broiler breeders. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 32(1), 118.
- Creswell, Clifford J, Olaf A Runquist, dan Malcolm M. Campbell. 1982. *Analisis Spektrum Senyawa Organik*. Bandung: ITB
- Dachriyanus, 2004, *Analisis Struktur Senyawa Organik Secara Spektroskopi*, Padang: Universitas Andalas
- De León, L., López, M. R., & Moujir, L. (2010). Antibacterial properties of zeylasterone, a triterpenoid isolated from *Maytenus blepharodes*, against *Staphylococcus aureus*. *Microbiological Research*, 165(8), 617-626.
- Desiyana, L. S., Husni, M. A., & Zhafira, S. (2016). Uji efektivitas sediaan gel fraksi etil asetat daun jambu biji (*Psidium guajava* Linn) terhadap penyembuhan luka terbuka pada mencit (*Mus musculus*). *Jurnal natural*, 16(2), 23-32.
- Dina. K., & Herrani, R. (2022). Uji Aktivitas Antibakteri dari Ekstrak Bawang Lanang (*Allium sativum* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Journal Of Healthcare Technology and Medicine*, 8(2), 1408-1420.
- Effendi, F., Roswiem, A. P., & Stefani, E. (2014). Uji Aktivitas Antibakteri Teh Kombucha Probiotik Terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *FITOFARMAKA: Jurnal Ilmiah Farmasi*, 4(2), 1-9.
- El Kariem, V., & Maesaroh, I. (2022). Standarisasi Mutu Simplisia Jahe (*Zingiber Officinale Roscoe*) Dengan Pengeringan Sinar Matahari dan Oven. *Herbapharma: Journal of Herb Pharmacological*, 4(1), 1-10.
- Endrowahyudi, H., Fathon, I., Darwis, R. S., & Widyasari, R. (2021). Antibacterial Effectiveness of Lerak Fruit Ethanol Extract (*Sapindus rarak* DC) And 2% Chlorhexidine in *Enterococcus faecalis*. *Journal of Health and Dental Sciences*, 1(2), 188-196.

- Ergina, E., Nuryanti, S., & Pursitasari, I. D. (2014). Uji Kualitatif Senyawa Metabolit Sekunder Pada Daun Palado (*Agave angustifolia*) yang Diekstraksi dengan Pelarut Air dan Etanol. *Jurnal Akademika Kimia*, 3(3), 165-172.
- Etame, R. E., Mouokeu, R. S., Pouaha, C. L. C., Kenfack, I. V., Tchientcheu, R., Assam, J. P. A., ... & Ngane, R. A. N. (2018). Effect of fractioning on antibacterial activity of *Enantia chlorantha* Oliver (*Annonaceae*) methanol extract and mode of action. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine: Ecam*, 2018
- Fajriaty, I., Hariyanto, I. H., Saputra, I. R., & Silitonga, M. (2017). Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis dari Ekstrak Etanol Buah Lerak (*Sapindus rarak*). *Jurnal Pendidikan Informatika dan Sains*, 6(2), 243-256.
- Farnsworth, N. R. (1966). Biological and phytochemical screening of plants. *Journal of pharmaceutical Sciences*, 55(3), 225-276.
- Fasya, A. G., Riska Dinasti, A., Syofiyah, M., Maghfiroh Rahmawati, L., Millati, N., Aulia Safitri, D., Handoko, S., Hanapi, A., & Ningsih, R. (2016). Ekstraksi, Hidrolisis dan Partisi Metabolit Sekunder dari Mikroalga *Chlorella sp.* In *ALCHEMY: Journal of Chemistry | EISSN* (Vol. 5).
- Fatmawati, I. (2014). Efektivitas Buah Lerak (*Sapindus rarak* De Candole) sebagai Bahan Pembersih Logam Perak, Perunggu, dan Besi. *Borobudur*, 8(2), 24-31.
- Firdausi, I., Retnowati R. & Sutrisno. 2015. Fraksinasi Ekstrak Metanol Daun Mangga Kasturi (*Mangifera casturi* Kosterm) dengan Pelarut n-Butanol. *Kimia.StudentJournal*. 1(8),785-790
- Fitria, J. R. (2020). Analisis Bioaktivitas Bahan Irigasi Ekstrak Buah Lerak (*Sapindus Rarak* DC) Terhadap Patogenesis *Fusobacterium Nucleatum* (Kajian Uji Anti-Adhesi, Uji Biomassa, dan Uji Porositas Dinding Saluran Akar Gigi) (Penelitian In Vitro). (*Skripsi*). Universitas Sumatera Utara
- Forbes, B. A., Sahm, D. F. & Weissfeld, A. S. 2007. *Bailey and Scott's: Diagnostic Microbiology*. Virginia: Mosby Inc.
- Ganiswarna, Sulistia G, dkk. 1995. *Farmakologi dan Terapi. Edisi IV. Fakultas Kedokteran-Universitas Indonesia*. Jakarta: Gaya Baru
- Gazali, A. M. F., Anam, S., & Khumaidi, A. (2016). Isolasi senyawa antibakteri ekstrak etanol akar krokot (*Portulaca oleracea* Linn) menggunakan bakteri uji *Staphylococcus aureus*. *Natural Science: Journal of Science and Technology*, 5(1).

- Ghozali, Imam., 2009, *Aplikasi Analisis Multivariate dengan Program SPSS*, Semarang: UNDIP.
- Girard F, I. Batisson, J. Harel and J.M. Fairbrother. 2003. *Use of Egg Yolk-Derived Immunoglobulins as an Alternative to Antibiotic Treatment for Control of Attaching and Effacing Escherichia coli Infection*. 103rd General Meeting of American Society for Microbiology, Washington D.C. Virginie, USA.
- Gu, T. 2000. Liquid-Liquid Partitioning Methods for Bioseparations. Dalam Pengaruh Partisi Bertingkat Cair-cair Ekstrak Etanol Rimpang Jahe (*Zingiber officinale Rosc.*) Terhadap Profil Kandungan senyawa Kimia dan Aktifitas Antiradikalnya. Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah: Surakarta
- Gunawan, D dan Mulyani S. 2004. *Ilmu Obat Alam*. Jakarta: Penebar Swadaya
- Handoko, S. (2016). Pemisahan senyawa Steroid fraksi Petroleum Eter (Pe) Mikroalga *Chlorella sp*; dengan metode Kromatografi kolom pembuatan fasa diam cara basah dan kering (*Doctoral dissertation*, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim).
- Halimah, H., Suci, D. M., & Wijayanti, I. (2019). Studi potensi penggunaan daun mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) sebagai bahan antibakteri *Escherichia coli* dan *Salmonella typhimurium*. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*, 24(1), 58-64.
- Harborne, J., 1997, *Metode Fitokimia: Penentuan Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, Ed. 2, Bandung: ITB.
- Harborne, J.B, 1996, *Metode Fitokimia, Cetakan II*, diterjemahkan oleh Kosasih. Padma Winata dan Iwang Soediro, Bandung: ITB Press.
- Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia, Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Diterjemahkan oleh Dr. Kosasih Padmawinata dan Dr. Iwang Soediro. Bandung: Penerbit ITB
- Haryati, N. A., Saleh, C., & Erwin, E. (2015). Uji toksisitas dan aktivitas antibakteri ekstrak daun merah tanaman pucuk merah (*Syzygium myrtifolium Walp.*) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Kimia Mulawarman*, 13(1), 35-40.
- Hermawan, A., 2007, Pengaruh Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* L.) terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* Dengan Metode Difusi Disk, *Artikel Ilmiah*, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas Airlangga Surabaya.
- Hess, D, tt. 2012. *Plant Physiology, Molecular, Biochemical, and Physiological Fundamentals of Metabolism and Development*. Singapore: Toppan Company (S) Pte Ltd,

- Heyne, K. 1950. *De Nuttige planten van Indonesie, 2 vols.*, Bandung: Van Hoeve
- Huda, (2019) Ekstraksi dan uji aktivitas antioksidan senyawa aktif dengan variasi pengeringan Alga Merah (*Eucheuma cottonii*) Pantai Wongsorejo Banyuwangi. *Undergraduate thesis*, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Ibnu Katsir. 2016. *Tafsir Ibnu Katsir (Terjemah Bahrun Abu Bakar)*. Bandung: Sinar Baru Algesindo.
- Idrus, Rifki B., Bialangi, N., Alio, L (2013) Isolasi Dan Karakterisasi Senyawa Alkaloid Dari Biji Tumbuhan Sirsak (*Annona muricata* Linn), *Jurnal Sainstek*, 7(1)
- Illing,I., Safitri, W., and Erfiana, (2017), Uji Fitokimia Ekstrak Buah Dengan, *Jurnal Dinamika*, 66-84
- Indrayani, L., Soetjipto, H., & Sihasale, L. (2006). Skrining fitokimia dan uji toksisitas ekstrak daun pecut kuda (*Stachytarpheta jamaicensis* L. Vahl) terhadap larva udang *Artemia salina* Leach. *Berkala Penelitian Hayati*, 12(1), 57-61.
- Isrianto, P. L., & Kristianto, S. (2017). Bioaktivitas Larvasida Ekstrak Buah Lerak Terhadap Larva *Aedes Aegypti* Instar III. *Bioma: Jurnal Biologi dan Pembelajaran Biologi*, 2(2).
- Jamilah, U. 2021. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air dan Etanol Daun Kelor (*Moringa Oleifera* Lamk.) Menggunakan Metode Ekstraksi Sonikasi. (*Skripsi*). Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Jannah, M. (2020). Uji aktivitas antibakteri fraksi etil asetat dan petroleum eter hasil hidrolisis ekstrak metanol *Hydrilla verticillata* terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* (*Doctoral dissertation*, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim).
- Jawetz *et al.* 1995. *Mikologi Kedokteran. Dalam: Mikrobiologi Kedokteran (20 ed.)*. Jakarta: EGC.
- Jawetz, E., Melnick, J.L. & Adelberg, E.A., 2005, *Mikrobiologi Kedokteran*, diterjemahkan oleh Mudihardi, E., Kuntaman, Wasito, E. B., Mertaniasih, N. M., Harsono, S., Alimsardjono, L., Edisi XXII, Jakarta: Penerbit Salemba Medika.
- Jawetz, E., Melnick, J.L., Adelberg, E.A. 2007. *Mikrobiologi Kedokteran*. 23thEd. Alih bahasa oleh Hartanto, H., *et al.* Jakarta: EGC

- Jaya., Leliqia, N. P. E., & Widjaja, I. N. K. (2008). Uji aktivitas penangkapan radikal dpph ekstrak produk teh hitam (*Camellia sinensis* (L.) OK) dan gambir (*Uncaria gambir* (Hunter) Roxb) serta profil KLT-densitometrinya. *Jurnal Farmasi Udayana*, 1(1), 279725.
- Kartika, B., P, Hastuti dan W, Supartomo. 1997. *Pedoman Uji Inderawi Bahan Pangan. Pusat Antar Universitas*. Yogyakarta: Pangan dan Gizi. Universitas Gadjah Mada.
- Khasanah, N. F. (2018). Uji toksisitas senyawa aktif fraksi n-Heksana, kloroform dan n-Butanol Hydrilla verticillata hasil hidrolisis ekstrak metanol dari Perairan Danau Ranu Pasuruan (*Doctoral dissertation*, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim).
- Khoiriyah, S. (2014). Uji fitokimia dan aktivitas antibakteri Fraksi etil asetat, Kloroform dan Petroleum eter ekstrak metanol alga coklat *Sargassum vulgare* dari Pantai Kapong Pamekasan Madura (*Doctoral dissertation*, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim).
- Khopkar, S.M. 2008. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. (Alih bahasa: A.Saptorahardjo). Jakarta: Ui Press
- Kirk-Othmer.1962. *Encyclopedia of Chemical Technology: Sulfonation and Sulfation*. V 19. New York: The Interscience Encyclopedia. Inc.
- Laela, E., Isnaini, I., Rufaida, E. Y., & Sayogo, R. (2018). Efektivitas Sabun Alami terhadap Warna Batik. *Dinamika Kerajinan dan Batik*, 35(2), 119-124.
- Latief, M., Meriyanti, N. F., Tarigan, I. L., Ayu, A. N., Maharani, R., Aulia, E., & Siregar, D. (2022). Isolasi Senyawa Triterpenoid Ekstrak Etanol Daun Jeruju (*Achantus Ilicifolius*) dan Aktivitas Antibakterinya Terhadap *S. Aureus* dan *E. Coli*. *Jurnal Kimia (Journal of Chemistry)*, 16(1).
- Lestari, A. L. D., & Permana, A. (2020). Daya Hambat Propolis Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Pro-Life*, 7(3), 237-250.
- Lestari, D., Fitriani, D., & Angraeni, S. (2021). Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Etil Asetat dan n-Heksana dari Daun Mangga Kasturi (*Mangifera casturi Kosterm.*). *KOVALEN: Jurnal Riset Kimia*, 7(3), 227-233.
- Liswandari, M. S. (2018). Uji aktivitas antibakteri alga hijau (*Ulva sp.*) dari pantai Sorido Biak terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Farmasi Medica/Pharmacy Medical Journal (PMJ)*, 1(1).

- Lutfillah, M. (2008). Karakterisasi senyawa alkaloid hasil isolasi dari kulit batang angret (*Spathoda campanulata Beauv*) serta uji aktivitasnya sebagai antibakteri secara in vitro. *Fakultas MIPA Universitas Brawijaya, Malang*.
- M. Quraish Shihab, 2009, *Tafsir al-Misbah*, Jakarta: Lentera Hati
- Maharani, T., Sukandar, D., dan Hermanto, S. 2016. Karakterisasi Senyawa Hasil Isolasi Dari Ekstrak Etil Asetat Daun Namnam (*Cynometra Cauliflora* L.) yang Memiliki Aktivitas Antibakteri. *Jurnal Kimia VALENSI*, 2(1), 55–62.
- Makatambah, V., Fatimawali, F., & Rundengan, G. (2020). Analisis Senyawa Tannin Dan Aktifitas Antibakteri Fraksi Buah Sirih (*Piper betle* L) Terhadap *Streptococcus mutans*. *Jurnal MIPA*, 9(2), 75-89.
- Mardinata, Z., 2013. *Mengolah Data Penelitian Menggunakan Program SAS*, Depok: Rajawali Press
- Mardiyah, U., Fasya, A. G., Fauziyah, B., & Amalia, S. (2014). Ekstraksi, uji aktivitas antioksidan dan identifikasi golongan senyawa aktif alga merah *Eucheuma spinosum* dari perairan Banyuwangi. *Alchemy*, 3(1), 39-46.
- Marfuah, I., Dewi, E. N., & Rianingsih, L. (2018). Kajian potensi ekstrak anggur laut (*Caulerpa racemosa*) sebagai antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Pengolahan dan Bioteknologi Hasil Perikanan*, 7(1), 7-14.
- Markham, K.R., 1988, *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*, Penerbit ITB, Bandung
- Marleni, T., Lukmayani, Y., & Sadiyah, E. R. (2018). Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dari Daun Suji (*Dracaena angustifolia* (Medik.) Roxb.), *Farmasi*. 45-53
- Marliana, E. (2017). Uji fitokimia dan aktivitas antibakteri ekstrak kasar etanol, fraksi n-heksana, etil asetat dan metanol dari buah labu air (*Lagenaria siceraria* (molina) standl). *Jurnal Kimia Mulawarman*, 8(2).
- Marliana, S. D., & Suryanti, V. (2005). Skrining fitokimia dan analisis kromatografi lapis tipis komponen kimia buah labu siam (*Sechium edule* Jacq. Swartz.) dalam ekstrak etanol. *Biofarmasi*, 3(1), 26-31.
- Moenandar, S., Widodo, L. U., & Donoriyanto, D. S. (2021). Peluang Usaha Sabun Ramah Lingkungan Dari Buah Lerak, Panti Asuhan Laksamana Moeljadi. *ABIYASA*, 1(1), 37-42

- Mohammed. Afroz Bakhti. 2015. Lemon Juice Catalyzed Ultrasound Assisted Synthesis of Schiff's Base a Total Green Approach. *Bulletin of Environment Pharmacology and Life Sciences* Vol 4 (10)
- Morales, G., Sierra, P., Mancilla, A., Paredes, A., Loyola, L. A., Gallardo, O., & Borquez, J. (2003). Secondary Metabolites from Four Medicinal Plants from Northern Chile: Antimicrobial Activity and Biototoxicity Against *Artemia Salina*. *Journal of the Chilean Chemical Society*, 48(2), 13-18.
- Mukaromah, A. H. 2010. Proses Hidrolisis Onggok Dengan Variasi Asam Pada Pembuatan Etanol. In *Prosiding Seminar Nasional & Internasional*.
- Nafiunisa, A., Aryanti, N., & Wardhani, D. H. (2019). Kinetic study of saponin extraction from *Sapindus rarak* DC by ultrasound-assisted extraction methods. *Bulletin of Chemical Reaction Engineering and Catalysis*, 14(2), 468.
- Nugrahani, R., Andayani, Y., & Hakim, A. (2016). Skrining fitokimia dari ekstrak buah buncis (*Phaseolus vulgaris* L) dalam sediaan serbuk. *Jurnal penelitian pendidikan ipa*, 2(1).
- Pelczar MJ & Chan ECS, 1988. *Dasar-Dasar Mikrobiologi 2*. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia.
- Pelczar MJ & Chan ECS, 2008. *Dasar-Dasar Mikrobiologi 1*. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia.
- Perron, N. R., & Brumaghim, J. L. (2009). A review of the antioxidant mechanisms of polyphenol compounds related to iron binding. *Cell biochemistry and biophysics*, 53, 75-100.
- Pradigdo, S. F., Broto, R. T. W., & Purbawati, D. (2021). Pemanfaatan Teknologi Mesin Disk Mill Dalam Pembuatan Sabun Lerak Pada Ukm Cv Rena Guna Meningkatkan Kualitas Dan Kuantitas Sebagai Produk Unggulan Masyarakat Kota Semarang. *Inisiatif: Jurnal Pengabdian Kepada Masyarakat*, 1(1), 40-43.
- Pratiwi, S. T. 2008. *Mikrobiologi farmasi*. Penerbit Erlangga. Jakarta
- Puspawati, N. M. I. 2018. Eksplorasi Bakteri Selulolitik dari Sampah Organik Kota Denpasar. *E-Jurnal Agroekoteknologi Tropika* Vol. 7.
- Putra, A. B., Bogoriani, N. W., Diantariani, N. P., & Sumadewi, N. L. U. (2014). Ekstraksi zat warna alam dari bonggol tanaman pisang (*Musa paradisiaca* L.) dengan metode maserasi, refluks, dan sokletasi. *Jurnal Kimia*, 8(1), 113-119.

- Putri, R. K., Hastuti, U. S., & Rohman, F. (2018). Daya Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Lerak (*Sapindus rarak* DC) dalam Beberapa Macam Konsentrasi Terhadap *Propionibacterium acnes*. *Sains dan Matematika*, 6(2), 61-66.
- Rachman, A., Wardatun, S., dan Weandarlina, I. Y. 2015. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Saponin Ekstrak Metanol Daun Binahong (*Anredera Cordifonia* (Ten.) Steenis). *Jurnal Kimia. Program Studi Farmasi, FMIPA Universitas Pakuan Bogor*.
- Rahmawati, R. (2014). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sisik Naga (*Drymoglossum piloselloid* (L.) Pesi) dan Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) terhadap Bakteri *Streptococcus mutans*. *Skripsi. UIN Malang*.
- Ramadhan, H., Andina, L., Yuliana, K. A., Baidah, D., & Lestari, N. P. (2020). Phytochemical Screening and Randemen Comparison of 96% Ethanol Extract of Terap (*Artocarpus odoratissimus Blanco*) Leaf, Flesh and Peel. *Jurnal Ilmiah Farmako Bahari*, 11(2), 103-112.
- Reynolds, James. E. F. 1996. *Martindale, The Extra Pharmacopeia 31 Edition*. The Royal Pharmaceutical. Society Press. London
- Rezaldi, F., Fadillah, M. F., Agustiansyah, L. D., Tanjung, S. A., Halimatusyadiah, L., & Safitri, E. (2022). Aplikasi Metode Bioteknologi Fermentasi Kombucha Buah Nanas Madu (*Ananas comosus*) Subang Sebagai Antibakteri Gram Positif Dan Negatif Berdasarkan Konsentrasi Gula Yang Berbeda. *Jurnal Agroteknologi Merdeka Pasuruan*, 6(1), 9-21.
- Rijayanti, R. P. (2014). Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun mangga bacang (*Mangifera Foetida* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* secara in vitro. *Jurnal Mahasiswa PSPD FK Universitas Tanjungpura*, 1(1).
- Riza, N. A., & Oktavia, A. I. (2018). Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Buah Lerak (*Sapindus rarak*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* (*Doctoral dissertation*, AKFAR PIM).
- Robinson, T. 1995, *Kandungan Organik Tumbuhan tinggi*, Bandung: ITB Press.
- Rompas, R. A., H. J. Edy, A. Yudistira. 2012. Isolasi Dan Identifikasi Flavonoid Dalam Daun Lamun (*Syringodium Isoetifolium*). *Pharmacon Vol. 1*(2): 59-63
- Saifudin, A., Suparti, F.A. dan Da'i, M. 2006. Biotransformasi Kurkumin Melalui Kultur Suspensi Sel Daun *Catharanthus roseus* [L] G.Don Berbunga Merah Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah. *Jurnal Penelitian Sains dan Teknologi Vol. 7* No. 2 2006-92-102

- Saleh, H.A. Saokani, J., dan Rijal, S. 2016. Penentuan Nilai Kalor Serta Pengaruh Asam Klorida (HCl) terhadap Kadar Bioetanol Bonggol Pisang (*Musa paradisiacal*). *Al-Kimia*, 4(1), 68-77.
- Samudra, Azhari Aziz. 2004. *Hakekat Akal Jasmani dan Rohani*. Bekasi: Yayasan Majlis Ta'lim HDH,
- Sani, R. N., Nisa, F. C., Andriani, R. D., dan Madigan, J. M. 2013. Analisis reedmen dan skrining fitokimia ekstrak etanol mikroalga laut (*Tetraselmis chui*). *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 2 (2): 121-126
- Sankari, G., E. Kriahnamoorthy, S. Jayakumaran, S. Gunaeakaran, V.V. Priya, S. Subramanlam, S. Subramanlam, and S.K. Mohan 2010, *Analysis of serum immunoglobulins using fourier transform*. *Scientific Committee on Occupational Exposure Limits* Luxembourg: Publications Office of the European Union
- Santosa, H., Sari, W., & Handayani, N. A. (2018). Ekstraksi Saponin dari Daun Waru Berbantu Ultrasonik Suatu Usaha untuk Mendapatkan Senyawa Penghambat Berkembangnya Sel Kanker. *Jurnal Inovasi Teknik Kimia*, 3(2).
- Saputri, A. U., Purnamayati, L., & Anggo, A. D. (2019). Aktivitas Antibakteri Anggur Laut (*Caulerpa lentillifera*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Perikanan*, 1(1), 15-20.
- Sari, A. P., Yudiati, E., & Sunaryo, S. (2020). Toksisitas Partisi N-Heksan dan Etil Asetat pada Ekstrak *Sargassum sp.* terhadap Larva *Aedes aegypti* Instar III. *Journal of Marine Research*, 9(2), 143-150.
- Sari, D. M., Effendi, I., & Nursyirwani, N. (2019). Identification of Antibiotic-Producing Bacteria from Extreme Microhabitat in Molecular Mangrove Ecosystems and Their Activity on Pathogenic Bacteria (*Vibrio alginolyticus*). *Jurnal Perikanan dan Kelautan*, 9(2), 137-150.
- Sasmita, V., Ridhay, A., & Ys, H. (2019). Potensi Antioksidan Metabolit Sekunder Fraksi Etil Asetat Dari Kulit Batang Eboni (*Diospyros celebica* Bakh.). *KOVALEN: Jurnal Riset Kimia*, 5(2), 155-165.
- Shah, M., Parveen, Z., & Khan, M. R. (2017). Evaluation of antioxidant, anti-inflammatory, analgesic and antipyretic activities of the stem bark of *Sapindus mukorossi*. *BMC complementary and alternative medicine*, 17(1), 1-16.
- Shihab, M. Quraish. 2002. *Tafsir Al-Misbah: Pesan, Kesan dan Keserasian Al-Qur'an Cetakan 11 Vol.15*, Jakarta: Lentera Hati

- Silviani, Y. (2017). Inhibitory effect of *Sapindus rarak* ethyl acetate extract on *Staphylococcus aureus*. *Asian Journal of Tropical Biotechnology*, 14(1), 16-18.
- Silviani, Y. & Puspitaningrum, A., (2014). Potensi Ekstrak Etil Asetat Lerak (*Sapindus Rarak*) Sebagai Anti *Escherichia coli*. In *Seminar Nasional Pendidikan Sains IV 2014*. Sebelas Maret University.
- Simanjuntak, P. 1988. Metode Isolasi dan Pemurnian Ekstrak Air dari Tumbuhan. *Warta AKAB*.
- Simaremare, E.S. 2014, Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Gatal (*Laportea decumana* (Roxb.) Wedd), *Universitas Cendrawasih, Jayapura*, 11(1):1-5
- Singh, R., & Kumari, N. (2015). Comparative determination of phytochemicals and antioxidant activity from leaf and fruit of *Sapindus mukorossi* Gaertn. A valuable medicinal tree. *Industrial Crops and Products*, 73, 1-8.
- Sinurat, A. P., Wina, E., Rakhmani, S. I., Wardhani, T., Haryati, T., & Purwadaria, T. (2018). Bioactive substances of some herbals and their effectiveness as antioxidant, antibacteria and antifungi. *Jurnal Ilmu Ternak dan Veteriner*, 23(1), 18-27.
- Sitorus, F., Wulansari, E., Sulistyarini, I (2020) Uji Kandungan Fenolik Total Dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Asam Paya (*Eleiodoxa conferta* (Griff.) Burret) Terhadap *Staphylococcus aureus*. *Media Farmasi Indonesia*. 15(2): 1617-1624
- Soedarto. 2015. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: CV. Sagung Seto.
- Sufiriyanto Indraji, M. 2005. Aktivitas Pemberian Ekstrak Temulawak (*Curumae xanthoriza*) dan Kunyit (*Curcumae domestica*) terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus*. *Jurnal Biologi*. 11(15-23)
- Sulistyarini, I., Sari, D. A., & Wicaksono, T. A. (2020). Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Batang Buah Naga (*Hylocereus polyrhizus*). *Cendekia Eksakta*, 5(1).
- Susanti, A.D., Dwi, A., Gita, G. & Yosephin, B.G. 2012. Polaritas Pelarut Sebagai Pertimbangan Dalam Pemilihan Pelarut Untuk Ekstraksi Minyak Bekatul dari Bekatul Varietas Ketan (*Oriza sativa Glatinosa*). (*Skripsi*) Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Susiloningrum, D., & Indrawati, D. (2020). Penapisan Fitokimia Dan Analisis Kadar Flavonoid Total Rimpang Temu Mangga (*Curcuma mangga* Valetton & Zijp.) Dengan Perbedaan Polaritas Pelarut. *Jurnal Keperawatan dan Kesehatan Masyarakat Cendekia Utama*, 9(2), 126-136.

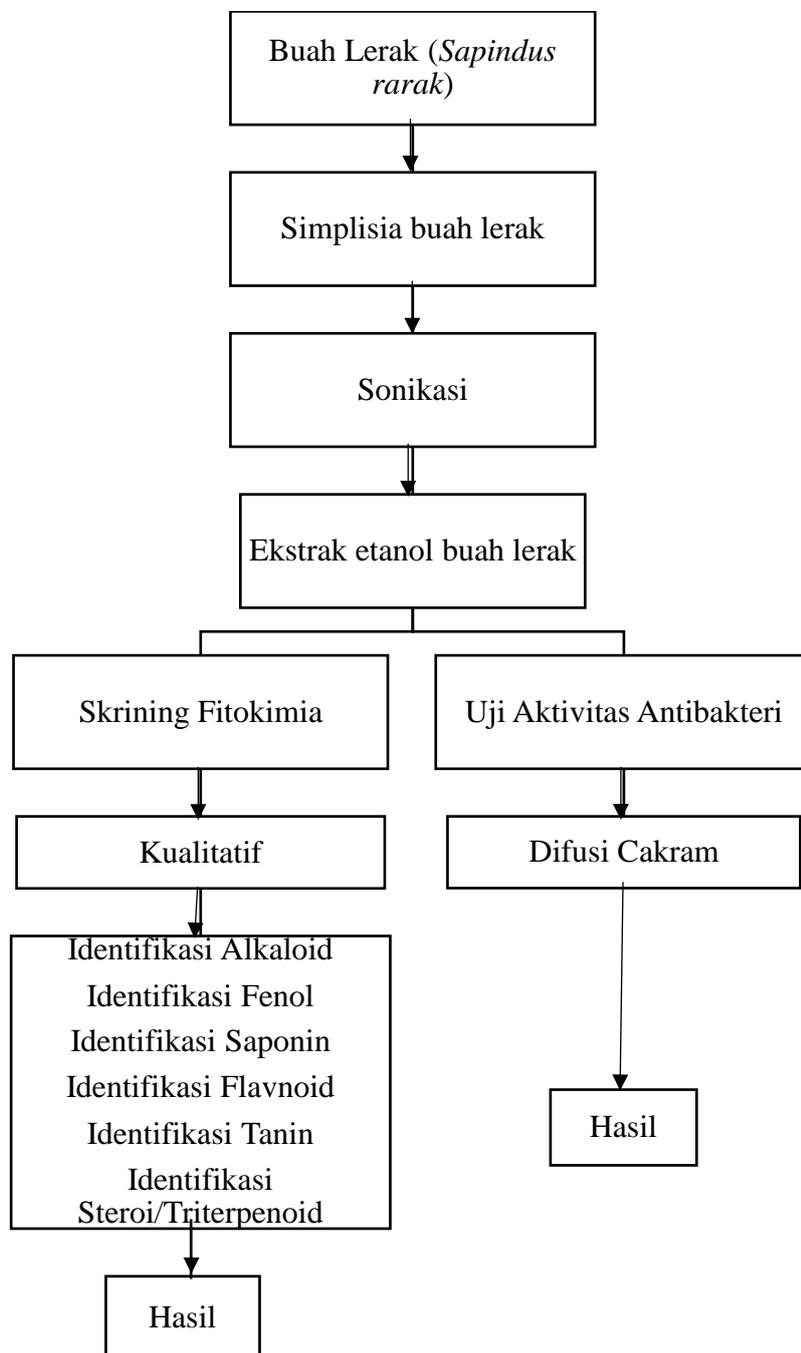
- Suslick KS. 1988. *Ultrasounds: Its Chemical, Physical and Biological Effects*. VHC Publishers, New York
- Syafa'ahl, N., Rubiyanti, R., & Aji, N. (2019). Pengaruh Pelarut Campur Etil Asetat Dan N-Heksana Terhadap Rendemen dan Golongan Senyawa Ekstrak Biji Alpukat *Jurnal Media Informasi* 16(1), 54-64.
- Syamsuhidayat, S.S dan Hutapea, J.R, 1991, *Inventaris Tanaman Obat Indonesia*, edisi kedua, Jakarta: Departemen Kesehatan RI
- Syarif *et al.*, 2012. *Farmakologi Dan Terapi*. Ed. 5. Jakarta: FKUI.
- T. Murniasih, 2003, Metabolit Sekunder dari Spons sebagai Obat-Obatan, *Oseana*, vol. 28, no 3, pp. 27-33,
- Tambun, Rondang, Limbong, Harry P., Pinem, Christika, Manurung, Ester, 2016, Pengaruh Ukuran Partikel, Waktu dan Suhu pada Ekstraksi Fenol dari Lengkuas Merah, *Jurnal Teknik Kimia USU*, Vol. 5, No. 4.
- Tannady, H., & Munardi, W. E. (2017). Pengamatan Waktu Pelayanan Operator Pintu Tol dengan Uji Hipotesis Analysis of Variance (ANOVA) (Studi Kasus: Gerbang Tol Ancol Timur, Jakarta Utara. *JIEMS (Journal of Industrial Engineering and Management Systems)*, 8(1)
- Tarigan, I. L., Aini, I. P. S., & Latief, M. (2022). Isolation of a Flavone Apigenin and Steroids Squalene from *Peronema canescens* Jack Leaves with Anti-Inflammatory Activities. *Pharmacognosy Journal*, 14(6).
- Tjitrosoepomo, G. 1994. *Morfologi Tumbuhan*. Gajah Mada. University Press. Yogyakarta
- Trinovita, Y., Mundriyastutik, Y., Fanani, Z., & Fitriyani, A. N. F. A. N. (2020). Evaluasi Kadar Flavonoid Total pada Ekstrak Etanol Daun Sangketan (*Achyranthes aspera*) dengan Spektrofotometri. *Indonesia Jurnal Farmasi*, 4(1), 12-18.
- Turofiq, I. A. (2019). Studi Variasi Kadar Air Terhadap Sifat Fisik Dan Sifat Mekanik Lerak (*Sapindus rarak*) (*Doctoral dissertation*, Universitas Brawijaya).
- Uddin, M. (2019). Environmental Factors on Secondary Metabolism of Medicinal Plants. *Acta Scientific Pharmaceutical Sciences*, 3(8), 34-46.
- Utami, K. S. (2014). Uji aktivitas antibakteri Fraksi Etil Asetat, Kloroform, Petroleum Eter, dan n-Heksana hasil Hidrolisis ekstrak Metanol Mikroalga *Chlorella sp* (*Doctoral dissertation*, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim).

- Utami, S., Widiyantoro, A., & Jayuska, A. (2017). Karakterisasi Senyawa Fenolik Dari Fraksi Metanol Bunga Nusa Indah (*Mussaenda Erythrophylla*). *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 6(4)
- Utami, T. S., Arbianti, R., Hermansyah, H., Reza, A., & Rini, R. (2009). Perbandingan aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun simpur (*Dillenia indica*) dari berbagai metode ekstraksi dengan uji ANOVA. In *Seminar Nasional Teknik Kimia Indonesia* (pp. 19-20).
- Vogel. 1978. *Textbook of quantitative an organic analysis (4 th. Ed)*. London and New. York: Longman
- Wahyuni, W., Malik, F., Ningsih, A., Zubaydah, W. O. S., & Sahidin, S. (2018). Antimicrobial activities of ethanol extract of Wualae (*Etilingera elatior* (JACK) RM Smith). *Journal of Pharmaceutical and Medicinal Sciences*, 3(1).
- Wardhani, L. K. Dan N. Sulistyani. 2012. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Daun Binahong (*Anredera Scandens* (L.) Moq.) Terhadap *Shigella Flexneri* Beserta Profil Kromatografi Lapis Tipis. *Jurnal Ilmiah Kefarmasian*, Vol. 2(1): 1-16
- Wendersteyt, N. V., Wewengkang, D. S., & Abdullah, S. S. (2021). Uji Aktivitas Antimikroba Dari Ekstrak Dan Fraksi Ascidian Herdmania Momus Dari Perairan Pulau Bangka Likupang Terhadap Pertumbuhan Mikroba *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium* dan *Candida albicans*. *Pharmacon*, 10(1), 706.
- Widjanarko, S.B. and Megawati, J., 2015. Analisis Metode Kolorimetri dan Gravimetri Pengukuran Kadar Glukomanan pada Konjak (*Amorphophallus Konjac*). *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, 3(4), pp.1584-1588
- Widowati, R., Ramdani, M. F., & Handayani, S. (2022). Senyawa Fitokimia dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Lerak (*Sapindus rarak*) terhadap Tiga Bakteri Penyebab Infeksi Nosokomial. *Jurnal Penelitian Kesehatan "SUARA FORIKES"(Journal of Health Research " Forikes Voice")*, 13(3), 649-654.
- Wijayanti, F., Sari, M., Suprayitno, R., & Aminin, D. (2020). The Gel Soap with Raw Materials of Lerak Fruit (*Sapindus rarak* DC). *Stannum: Jurnal Sains Dan Terapan Kimia*, 2(1), 1-6.
- Yuliana, P., Laconi, E. B., Wina, E., & Jayanegara, A. (2014). Extraction of tannins and saponins from plant sources and their effects on in vitro methanogenesis and rumen fermentation. *J. Indonesian Trop. Anim. Agric*, 39(2), 91-97.

- Yumas, M. (2017). Pemanfaatan Limbah Kulit Ari Biji Kakao (*Theobroma Cacao* L) Sebagai Sumber Antibakteri *Streptococcus Mutans* (Utilization of Cocoa Beans Epidermis Waste (*Theobroma Cacao* L) as Antibacterial *Streptococcus Mutans*). *Jurnal Industri Hasil Perkebunan*, 12(2), 7-20
- Zakiah, A., & Radiastuti, N. (2015). Aktivitas antibakteri kapang endofit dari tanaman kina (*Cinchona calisaya* Wedd.). *Al-Kauniah Jurnal Biologi*. Vol. 8 No. 2
- Zuhra., J.B. Tarigan, dan H. Sitohang. 2008. Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid dari Daun Katuk (*Sauropus androgynus* (L)Merr.). *J Biologi Sumatera*. 3(1): 7-10.

## LAMPIRAN

### Lampiran 1: Rancangan Penelitian



## Lampiran 2: Diagram Alir

### L 2.1 Preparasi

1 Kg Buah Lerak (*Sapindus rarak*)

- dicuci buah lerak
- dipotong dengan lebar  $\pm 3$  mm
- dikeringkan, diserbukkan, dan diayak di materia medika Malang

Hasil

### L 2.2 Ekstraksi

Serbuk Buah Lerak (*Sapindus rarak*)

- dilarutkan sampel dengan etanol menggunakan perbandingan 1:10 (b/v)
- disonikasi dengan frekuensi 42 kHz selama 20 menit di perangkat *ultrasonic waterbath*
- disaring menggunakan corong buchner
- diambil filtrat
- diuapkan pelarutnya menggunakan rotary evaporator hingga pekat
- ditimbang ekstrak kering buah lerak.

Hasil

### L 2.3 Hidrolisis

Ekstrak pekat

- diambil 5 g ekstrak pekat
- dimasukkan dalam beaker glass
- ditambahkan 10 mL HCl 2 N dalam 5 g distirer dengan hot plate stirrer selama 2 jam pada suhu ruang
- ditambahkan natrium bikarbonat hingga pH netral

Hasil

## L 2.4 Partisi

### Ekstrak etanol pekat

- dimasukkan ekstrak hasil hidrolisis ke dalam corong pisah
- ditambahkan pelarut n-heksana sebanyak 25 mL
- dilakukan pengocokan selama 15 menit
- didiamkan beberapa saat hingga terbentuk dua lapisan
- dipisahkan masing-masing lapisan yang terbentuk.
- ditampung lapisan organik fraksi n-heksana dalam *beaker glass*
- dipartisi kembali lapisan air dengan pelarutn-heksana.
- diulang hingga 3 kali pengulangan
- dikumpulkan dan dipekatkan lapisan organik yang diperoleh dengan rotary evaporator vacuum hingga pekat
- dilakukan hal yang sama untuk pelarut etil asetat.
- dipekatkan fraksi pekat n-heksana dan etil asetat yang diperoleh dengan dialiri gas N<sub>2</sub>
- ditimbang masing-masing fraksi kering
- dihitung yield nya

Hasil

## L 2.5 Uji Fitokimia

### L 2.5.1 Uji Alkaloid

Ekstrak pekat

- ditambah 0,5 mL HCl 2% pada ekstrak
- dibagi larutan dalam dua tabung. Tabung I ditambahkan 2–3 tetes reagen Dragendorff dan tabung II ditambahkan 2–3 tetes reagen Mayer
- diamati perubahan yang terjadi

Hasil

### L 2.5.2 Uji Fenol

Ekstrak pekat

- ditambahkan 10 tetes  $\text{FeCl}_3$  1% pada ekstrak
- diamati perubahan yang terjadi

Hasil

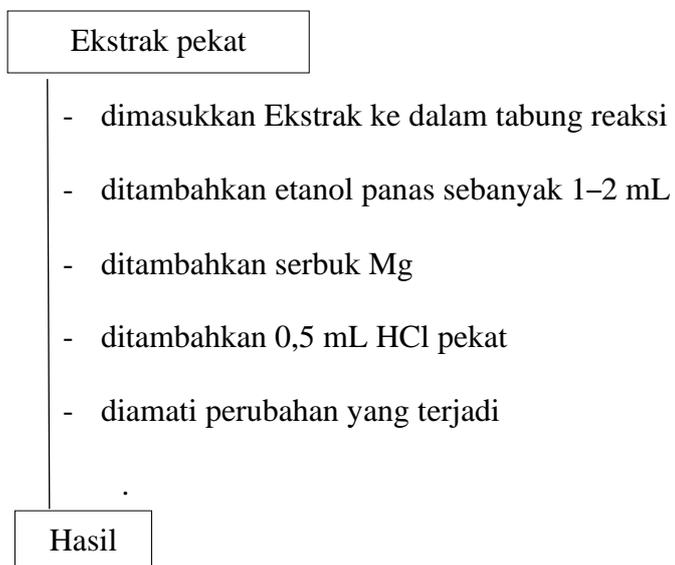
### L 2.5.3 Uji Saponin

Ekstrak pekat

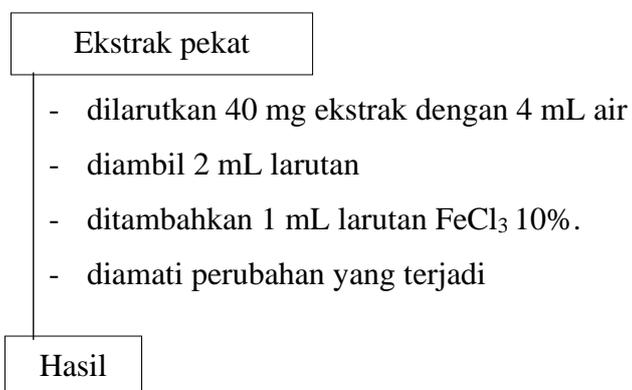
- dimasukkan 1 mg ekstrak ke dalam tabung reaksi
- ditambahkan 10 mL aquades
- dikocok selama 1 menit
- jika dihasilkan busa ditambahkan HCl 1 N
- diamati kestabilan ketinggian busa yang terjadi

Hasil

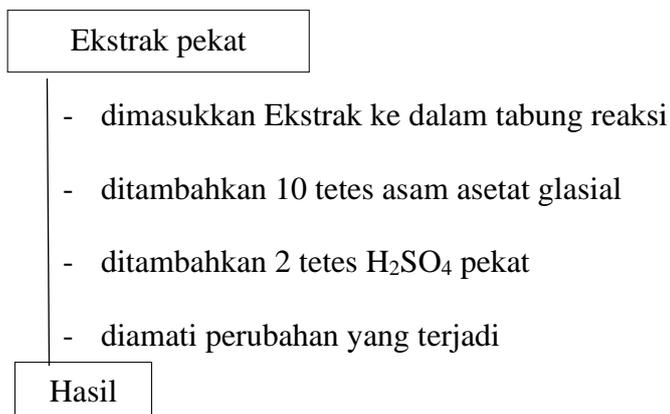
#### L 2.5.4 Uji Flavonoid



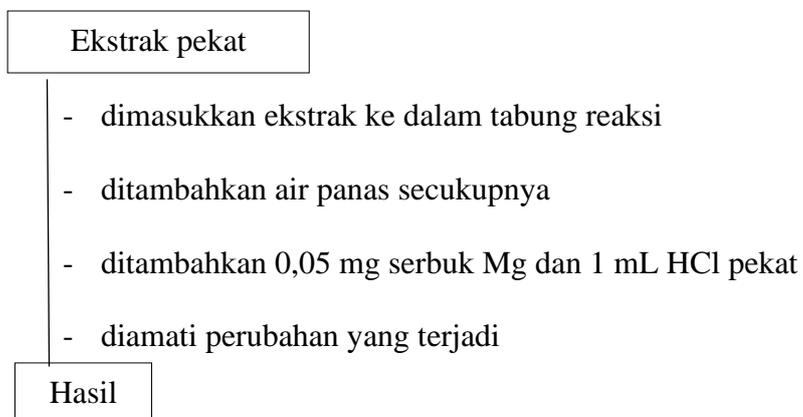
#### L 2.5.5 Uji Tanin



#### L 2.5.6 Uji Steroid/Triterpenoid

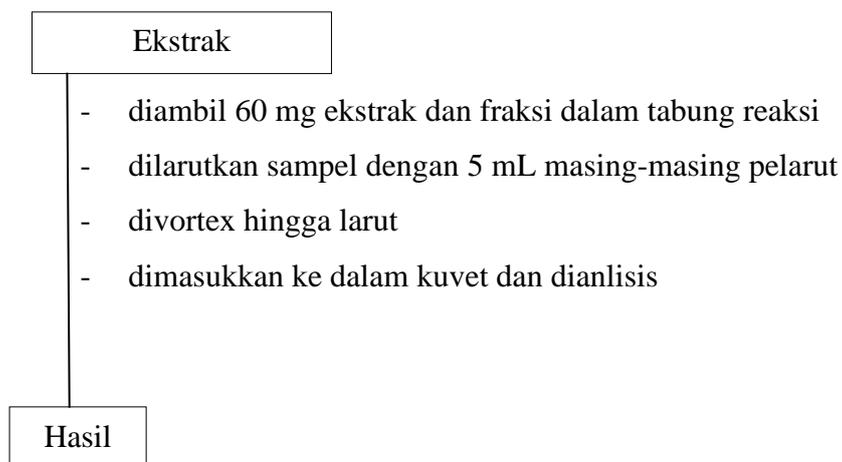


### L 2.5.7 Uji Steroid/Triterpenoid

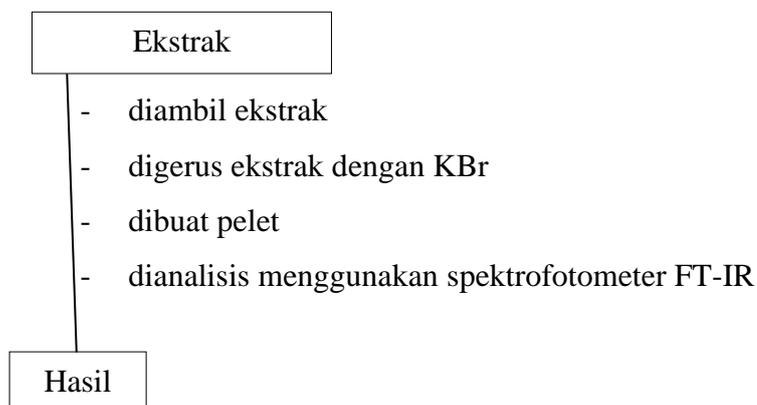


### L 2.6 Identifikasi Fraksi dan Ekstrak

#### L 2.6.1 Identifikasi dengan Spektrofotometer UV-Vis



#### L 2.6.1 Identifikasi dengan FTIR



## L 2.7 Aktivitas Antibakteri

### L 2.7.1 Sterilisasi Alat dan Bahan

Semua peralatan

- dibungkus alat berbahan kaca dan bahan menggunakan aluminium foil
- dimasukkan ke dalam autoklaf pada suhu 121°C dalam waktu 15 menit
- dikeluarkan alat dari autoklaf
- disimpan pada tempat yang kering.

Hasil

### L 2.7.2 Pembuatan Media Nutrient Agar

Media NA

- ditimbang 2 g NA
- dimasukkan ke dalam Erlenmeyer
- dilarutkan menggunakan 100 mL akuades lalu ditutup dengan aluminium foil hingga rapat
- dipanaskan hingga mendidih
- dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditutup rapat dengan kapas secara aseptik
- dimasukkan dalam autoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 15 psi selama 15 menit
- dibiarkan tabung reaksi hingga membeku  $\pm 1$  jam pada suhu ruang dengan dikondisikan miring.

Hasil

### L 2.73 Pembuatan Media Nutrient Broth

#### Media NB

- diambil Media NB (Nutrient Broth) sebanyak 0,8 gram
- dilarutkan dalam 100 mL aquades dalam Erlenmeyer
- ditutup dengan aluminium foil
- dipanaskan hingga mendidih
- dimasukkan ke dalam vial
- disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 15 psi

Hasil

### L 2.7.4 Peremajaan Bakteri

#### Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

- disterilkan jarum ose
- diambil bakteri dan digoreskan pada media NA secara aseptik.
- ditutup tabung reaksi media NA dengan rapat secara aseptik pula
- diinkubasi di dalam incubator dengan suhu 37°C dalam waktu tepat 1 hari.

Hasil

### L 2.7.5 Pembuatan Inokulum Bakteri

#### Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherechia coli* hasil peremajaan

- diambil biakan murni bakteri *S. aureus* dan *E. coli* sebanyak 2 ose
- disuspensikan dalam 25 mL media NB
- diinkubasi pada suhu 37°C selama 18 jam
- diuji nilai OD bakteri  $10^8$  CFU/mL setara dengan nilai OD 0,5

Hasil

### L 2.7.7 Uji Aktivitas Antibakteri Metode Difusi Agar

#### Ekstrak hasil partisi

- diambil larutan biakan aktif bakteri sebanyak 0,1 mL
- dimasukkan ke dalam cawan petri steril.
- dipanaskan 10 mL media NA hingga mencair
- didinginkan sampai suhu 40°C
- dituangkan dalam cawan petri yang berisi larutan biakan aktif bakteri
- dihomogenkan dan dibiarkan hingga memadat.
- direndam kertas cakram dengan diameter 5 mm dalam larutan kontrol dan masing-masing ekstrak serta fraksi dengan konsentrasi 100%, 50%, 25%, dan 12,5%
- diletakkan cakram secara aseptis di atas media yang telah ditanami bakteri uji
- diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam
- dilakukan 3 kali perulangan
- diukur zona hambat di sekitar cakram menggunakan jangka sorong
- ditentukan luas zona hambat diketahui

#### Hasil

### Lampiran 3: Perhitungan

#### L.3.1 Penentuan Larutan HCl 2%

$$\begin{aligned} M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\ 37\% \times V_1 &= 2\% \times 10 \text{ mL} \\ V_1 &= 0,54 \text{ mL} \end{aligned}$$

Jadi, membuat larutan HCl 2% diambil sebanyak 0,54 mL. larutan HCl pekat 37% dan diencerkan dengan akuades hingga volume 10 mL

#### L.3.2 Pembuatan Larutan FeCl<sub>3</sub> 1%

$$\% \text{ Konsentrasi} = \frac{\text{massa zat terlarut}}{\text{massa zat terlarut} + \text{massa pelarut}} \times 100\%$$

$$\text{Massa zat terlarut} + \text{massa pelarut} = \frac{\text{massa zat terlarut}}{\% \text{ konsentrasi}} \times 100\%$$

$$1 \text{ gram} + \text{massa pelarut} = \frac{1 \text{ gram}}{1\%} \times 100\%$$

$$\text{Massa pelarut} = 100 \text{ gram} - 1 \text{ gram} = 99 \text{ gram}$$

$$\text{Volume pelarut} = \frac{\text{massa pelarut} - 99 \text{ gram}}{\text{BJ pelarut} \quad 1 \text{ gram/mL}} = 99 \text{ mL}$$

Pembuatan larutan dengan ditimbang serbuk FeCl<sub>3</sub>.H<sub>2</sub>O sebanyak 1 gram dilarutkan dengan aquades ke dalam labu ukur 100 mL dan ditandabatkan serta dihomogenkan.

#### L.3.3 Penentuan Volume Larutan HCl 2N yang diambil

$$\rho \text{ HCl} = 1,19 \text{ g/mL} = 1190 \text{ g/L}$$

$$\text{BM HCl} = 36,42 \text{ g/mol}$$

$$n \text{ (jumlah ion H}^+) = 1$$

$$\text{Konsentrasi HCl 37\%} = \frac{37 \text{ gram}}{100 \text{ ml}} \times 100\%$$

$$\text{Mol HCl dalam larutan 37\%} = \frac{37 \text{ gram}}{36,42} = 1,059 \text{ mol}$$

$$\begin{aligned} \text{Volume larutan HCl dalam larutan 37\%} &= \frac{m}{\rho} = \frac{100 \text{ gram}}{1,19 \text{ g/mL}} \\ &= 84,033 \text{ mL} = 0,084 \text{ L} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Molaritas HCl 37\%} &= \frac{\text{mol}}{V \text{ (L)}} = \frac{1,059}{0,084} \\ &= 12,094 \text{ mol/L} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Normalitas HCl} &= n \times \text{Molaritas} \\ &= 1 \times 12,094 \text{ mol/L} \\ &= 12,094 \text{ N} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Volume HCl yang diambil} &= N_1 \times V_1 = N_2 \times V_2 \\ &= 12,0894 \text{ N} \times V_1 \\ &= 2\text{N} \times 100 \text{ mL} \\ V_1 &= \frac{2\text{N} \times 100 \text{ mL}}{12,0894 \text{ N}} = 16,5 \text{ mL} \end{aligned}$$

Jadi, volume yang dapat diambil untuk pembuatan larutan HCl 2N sebanyak 100 mL adalah 16,5 mL.

### L.3.5 Penentuan Larutan NaHCO<sub>3</sub> 5% (b/v)

$$\% \text{Konsentrasi} = \frac{b \text{ (gram)}}{v \text{ (mL)}}$$

$$5\% = \frac{b \text{ (gram)}}{100 \text{ mL}}$$

$$b \text{ (gram)} = 5 \text{ gram}$$

### L.3.6 Pembuatan Konsentrasi Ekstrak

- Pembuatan larutan Induk (A)  
Sebanyak 1 g ekstrak dilarutkan dengan DMSO 1 mL kemudian dihomogenkan sehingga didapatkan konsentrasi A.

- Pembuatan variasi konsentrasi ekstrak B, C, dan D

a. Konsentrasi B

$$\begin{aligned}M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\100 \times V_1 &= 50 \times 1 \text{ mL} \\V_1 &= 50/100 \\&= 0,5\end{aligned}$$

Jadi 0,5 mL ekstrak konsentrasi A dilarutkan dengan DMSO 0,5 mL dan dihomogenkan

b. Konsentrasi C

$$\begin{aligned}M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\50 \times V_1 &= 25 \times 1 \\V_1 &= 25/50 \\&= 0,5 \text{ mL}\end{aligned}$$

Jadi 0,5 ml ekstrak konsentrasi B dilarutkan dengan DMSO 0,5 mL dan dihomogenkan.

c. Konsentrasi D

$$\begin{aligned}M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\25 \times V_1 &= 12,5 \times 1 \\V_1 &= 12,5/25 \\&= 0,5\end{aligned}$$

Jadi 0,5 ml ekstrak konsentrasi C dilarutkan dengan DMSO 0,5 mL dan dihomogenkan.

**Lampiran 4: Jadwal Kegiatan Penelitian**

No	Bulan Ke- Kegiatan	1				2				3				4				5				6				7			
		1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
1	Persiapan Proposal dan Seminars	■	■	■	■																								
3	Penelitian				■																								
4	Preparasi Sampel					■	■	■	■																				
5	Ekstraksi Sampel							■	■																				
6	Uji Fitokimia								■	■	■	■																	
7	Hidrolisis dan Partisi									■	■	■	■																
8	Sterilisasi Alat											■	■																
9	Peremajaan Bakteri											■	■	■	■														
10	Pembuatan Inokulum											■	■	■	■														
11	Uji Difusi Agar											■	■	■	■	■	■												
9	Persiapan Seminar Hasil Penelitian dan seminar																	■	■	■	■								
11	Revisi dan Skripsi																					■	■	■	■				

## Lampiran 5. Data Pengamatan dan Perhitungan

### L.5.1 Rendemen

Tabel L.4.1.1 Data Hasil ekstraksi menggunakan pelarut etanol

Ulangan	Berat Sampel (g)	Berat Wadah (g)	Berat Wadah+ Ekstrak pekat (g)	Berat Ekstrak Pekat (g)
1	30	90,1702	112,4768	22,3066
2	30	89,8344	110,8255	20,9911
3	30	101,1385	122,5605	21,422

#### Rendemen ulangan 1

$$\begin{aligned}
 \text{Rendemen} &= \frac{\text{Berat ekstrak}}{\text{Berat sampel}} \times 100\% \\
 &= \frac{22,3066 \text{ g}}{30 \text{ g}} \times 100\% \\
 &= 74,3553\%
 \end{aligned}$$

#### Rendemen ulangan 2

$$\begin{aligned}
 \text{Rendemen} &= \frac{\text{Berat ekstrak}}{\text{Berat sampel}} \times 100\% \\
 &= \frac{20,9911 \text{ g}}{30 \text{ g}} \times 100\% \\
 &= 69,9703\%
 \end{aligned}$$

#### Rendemen ulangan 3

$$\begin{aligned}
 \text{Rendemen} &= \frac{\text{Berat ekstrak}}{\text{Berat sampel}} \times 100\% \\
 &= \frac{21,422 \text{ g}}{30 \text{ g}} \times 100\% \\
 &= 71,4067\%
 \end{aligned}$$

#### Rendemen rata-rata ekstrak etanol buah lerak

$$\begin{aligned}
 \text{Rendemen} &= \frac{\text{Rendemen ulangan (1+2+3)}}{3} \\
 &= \frac{74,3553\% + 69,9703\% + 71,4067\%}{3} \\
 &= 71,9108\%
 \end{aligned}$$

Tabel L.5.1.2 Data Hasil partisi menggunakan pelarut etil asetat

Ulangan	Berat Sampel (g)	Berat Wadah (g)	Berat Wadah+ Ekstrak pekat (g)	Berat Ekstrak Pekat (g)
1	5	99,6257	99,8682	0,2425
2	5	90,9924	91,2408	0,2484
3	5	92,1455	92,4242	0,2787

Rendemen ulangan 1

$$\begin{aligned} \text{Rendemen} &= \frac{\text{Berat ekstrak}}{\text{Berat sampel}} \times 100\% \\ &= \frac{0,2425 \text{ g}}{5 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 4,850\% \end{aligned}$$

Rendemen ulangan 2

$$\begin{aligned} \text{Rendemen} &= \frac{\text{Berat ekstrak}}{\text{Berat sampel}} \times 100\% \\ &= \frac{0,2484 \text{ g}}{5 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 4,968\% \end{aligned}$$

Rendemen ulangan 3

$$\begin{aligned} \text{Rendemen} &= \frac{\text{Berat ekstrak}}{\text{Berat sampel}} \times 100\% \\ &= \frac{0,2787 \text{ g}}{5 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 5,574\% \end{aligned}$$

Rendemen rata-rata fraksi etil asetat buah lerak

$$\begin{aligned} \text{Rendemen} &= \frac{\text{Rendemen ulangan (1+2+3)}}{3} \\ &= \frac{4,85\%+4,97\%+5,57\%}{3} \\ &= 5,1307\% \end{aligned}$$

Tabel L.5.1.2 Data Hasil partisi menggunakan pelarut n-heksana

Ulangan	Berat Sampel (g)	Berat Wadah (g)	Berat Wadah+ Ekstrak pekat (g)	Berat Ekstrak Pekat (g)
1	5	101,8763	101,8922	0,0159
2	5	57,1786	57,1973	0,0187
3	5	86,0284	86,0462	0,0178

## Rendemen ulangan 1

$$\begin{aligned} \text{Rendemen} &= \frac{\text{Berat ekstrak}}{\text{Berat sampel}} \times 100\% \\ &= \frac{0,0159 \text{ g}}{5 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 0,318\% \end{aligned}$$

## Rendemen ulangan 2

$$\begin{aligned} \text{Rendemen} &= \frac{\text{Berat ekstrak}}{\text{Berat sampel}} \times 100\% \\ &= \frac{0,0187 \text{ g}}{5 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 0,374\% \end{aligned}$$

## Rendemen ulangan 3

$$\begin{aligned} \text{Rendemen} &= \frac{\text{Berat ekstrak}}{\text{Berat sampel}} \times 100\% \\ &= \frac{0,0178 \text{ g}}{5 \text{ g}} \times 100\% \\ &= 0,356\% \end{aligned}$$

## Rendemen rata-rata fraksi n-heksana buah lerak

$$\begin{aligned} \text{Rendemen} &= \frac{\text{Rendemen ulangan (1+2+3)}}{3} \\ &= \frac{0,318\%+0,374\%+0,356\%}{3} \\ &= 0,3493\% \end{aligned}$$

## L.5.2 Data Uji Aktivitas Antibakteri

a. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap Bakteri *Escherichia coli*

Tabel 5.2.1 Data hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol

Konsentrasi	Zona Hambat (mm)			Rata-rata
	Ulangan I	Ulangan II	Ulangan III	
D	1	1,2	1,05	1,083
C	1,35	1,55	1,3	1,4
B	1,7	2,3	2,8	2,25
A	2,55	3,35	3,65	3,18

Tabel 5.2.2 Data hasil uji aktivitas antibakteri fraksi etil asetat

Konsentrasi	Zona Hambat (mm)			Rata-rata
	Ulangan I	Ulangan II	Ulangan III	
D	1,75	1,75	1,8	1,77
C	2,1	2,3	1,9	2,1
B	2,9	2,55	2,1	2,52
A	3,95	3,85	4,05	3,95

Tabel 5.2.3 Data hasil uji aktivitas antibakteri fraksi n-heksana

Konsentrasi	Zona Hambat (mm)			Rata-rata
	Ulangan I	Ulangan II	Ulangan III	
D	2,1	1,65	2,6	2,12
C	2,55	2,75	3,3	2,87
B	3,5	3,1	4,15	3,58
A	4,4	4,5	5,15	4,68

Tabel 5.2.4 Data hasil uji aktivitas antibakteri kontrol

Kontrol	Zona Hambat (mm)			Rata-rata
	Ulangan I	Ulangan II	Ulangan III	
Positif (12,5%)	14,25	13,8	14,7	14,25
Negatif	0	0	0	0
Pelarut etanol	0	0	0	0
Pelarut Etil Asetat	0	0	0	0
Pelarut N-Heksana	0	0	0	0

b. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*

Tabel 5.2.4 Data hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol

Konsentrasi	Zona Hambat (mm)			Rata-rata
	Ulangan I	Ulangan II	Ulangan III	
D	0,85	1,2	1,2	1,083
C	1,35	1,5	1,4	1,42
B	1,6	3,1	2,1	2,27
A	2,7	3,65	3,4	3,25

Tabel 5.2.5 Data hasil uji aktivitas antibakteri fraksi etil asetat

Konsentrasi	Zona Hambat (mm)			Rata-rata
	Ulangan I	Ulangan II	Ulangan III	
D	1,75	1,85	1	1,53
C	2,1	2,1	2,15	2,12
B	2,5	2,5	2,55	2,52
A	3,85	3,25	3,9	3,67

Tabel 5.2.5 Data hasil uji aktivitas antibakteri fraksi n-heksana

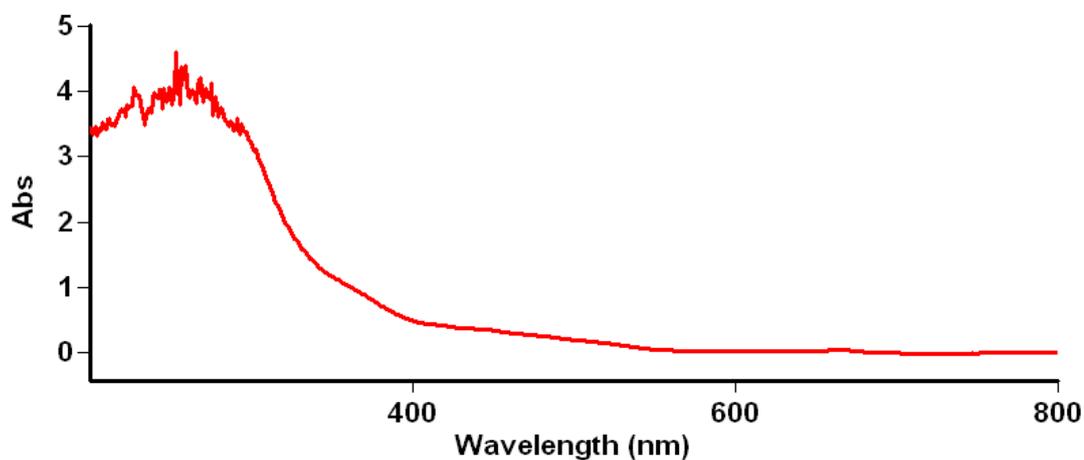
Konsentrasi	Zona Hambat (mm)			Rata-rata
	Ulangan I	Ulangan II	Ulangan III	
D	1,2	1,45	1,05	1,23
C	1,8	1,5	1,4	1,57
B	2,3	2,6	2,2	2,37
A	2,5	3,35	4,5	3,43

Tabel 5.2.6 Data hasil uji aktivitas antibakteri kontrol

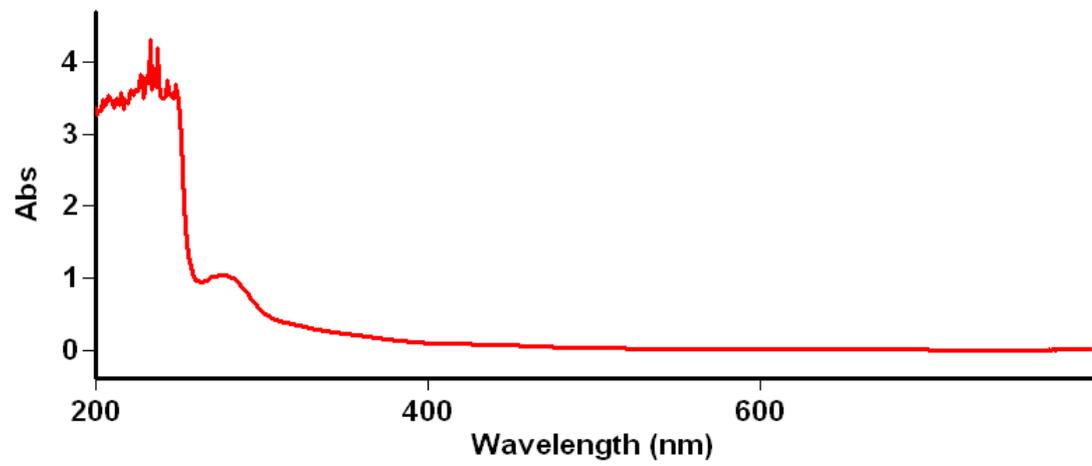
Kontrol	Zona Hambat (mm)			Rata-rata
	Ulangan I	Ulangan II	Ulangan III	
Positif (12,5%)	20,15	19,95	18,9	19,67
Negatif	0	0	0	0
Pelarut etanol	0	0	0	0
Pelarut Etil Asetat	0	0	0	0
Pelarut N-Heksana	0	0	0	0

### L.5.3 Gambar Hasil Identifikasi Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis

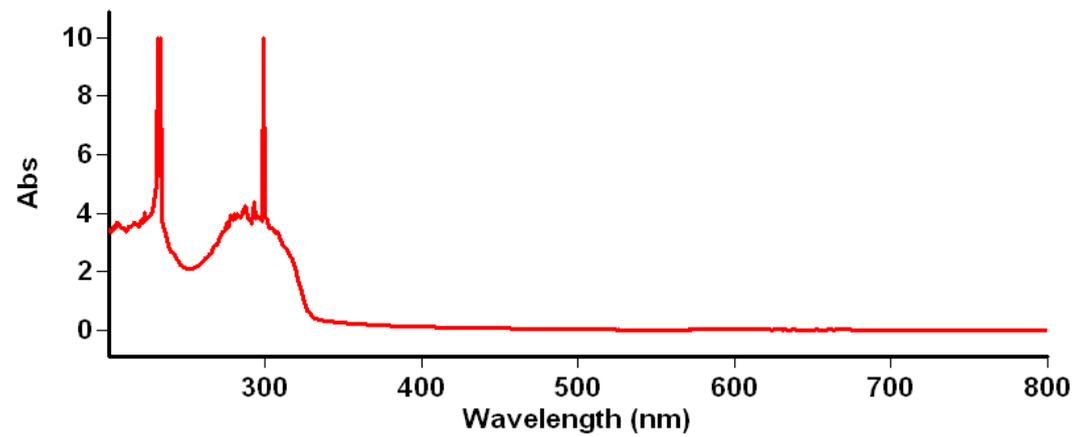
#### L.5.3.1 Ekstrak Etanol



## L.5.3.2 Fraksi Etil Asetat



## L.5.3.3 Fraksi n-Heksana





### L.5.4.3 Fraksi N-Heksana



### L.5.5 Hasil Analisis Two Way ANOVA Menggunakan SPSS

#### L.5.5.1 Bakteri *Escherichia coli*

#### Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: ZonaHambat

Source	Type III Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	37.707 <sup>a</sup>	11	3.428	24.340	.000
Intercept	248.325	1	248.325	1763.255	.000
JenisPelarut	10.633	2	5.317	37.752	.000
Konsentrasi	26.512	3	8.837	62.750	.000
JenisPelarut * Konsentrasi	.562	6	.094	.665	.678
Error	3.380	24	.141		
Total	289.413	36			
Corrected Total	41.087	35			

a. R Squared = .918 (Adjusted R Squared = .880)

**ZonaHambat**

		Subset		
JenisPelarut	N	1	2	3
Tukey HSD <sup>a,b</sup>	Etanol	12	1.9833	
	Etil Asetat	12		2.5833
	N-Heksana	12		3.3125
	Sig.		1.000	1.000

**ZonaHambat**

		Subset		
Konsentrasi	N	1	2	3
Tukey HSD <sup>a,b</sup>	D	9	1.6556	
	C	9	2.1222	
	B	9		2.7889
	A	9		3.9389
	Sig.		.064	1.000

L.5.5.1 Bakteri *Staphylococcus aureus***Tests of Between-Subjects Effects**

Dependent Variable: ZonaHambat

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	27.005 <sup>a</sup>	11	2.455	13.137	.000
Intercept	176.890	1	176.890	946.569	.000
JenisPelarut	1.496	2	.748	4.003	.032
Konsentrasi	25.315	3	8.438	45.155	.000
JenisPelarut * Konsentrasi	.194	6	.032	.173	.982
Error	4.485	24	.187		
Total	208.380	36			
Corrected Total	31.490	35			

**ZonaHambat**

		Subset		
JenisPelarut	N	1	2	
Tukey HSD <sup>a,b</sup>	Etanol	12	2.0042	
	N-Heksana	12	2.1542	2.1542
	Etil Asetat	12		2.4917
	Sig.		.676	.157

**ZonaHambat**

	Konsentrasi	N	Subset		
			1	2	3
Tukey HSD <sup>a,b</sup>	D	9	1.2833		
	C	9	1.7000		
	B	9		2.3833	
	A	9			3.5000
	Sig.			.200	1.000

## Lampiran 6. Dokumentasi Penelitian

### L.6.1 Preparasi Buah Lerak



Dipilih buah lerak



Dipisahkan dari bijinya



Dikeringkan dan diserbukkan

### L.6.1 Ekstraksi Buah Lerak



Ditimbang serbuk buah lerak



Ditambahkan pelarut etanol



Disonikasi



Disaring dengan corong Buchner



Dipekatkan dengan rotary evaporator



Ekstrak pekat ditimbang

### L.6.2 Hidrolisis dan Partisi



Ekstrak+HCL distirer selama 2 jam



Ditambahkan  $\text{NaHCO}_3$  dan terbentuk busa



Diuji pH dengan pH universal hingga netral



Dipartisi dengan pelarut n-heksana dan etil asetat



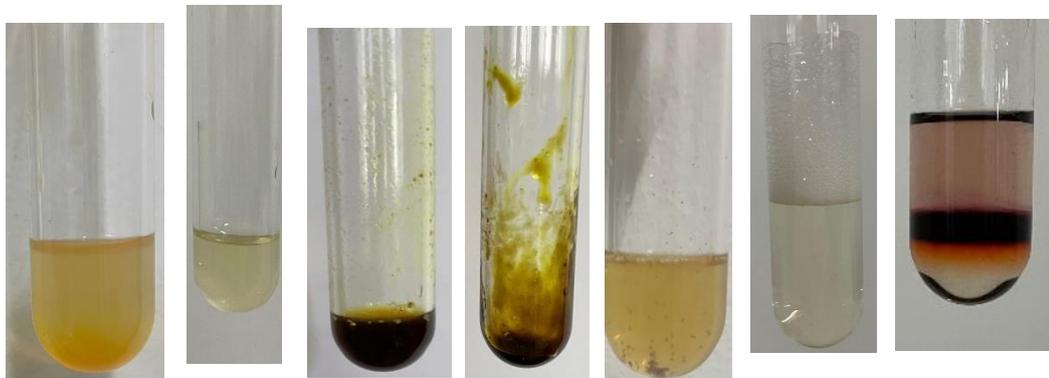
Fasa organik  
dipekatkan  
dengan rotary  
evaporator



Ditimbang  
ekstrak pekat

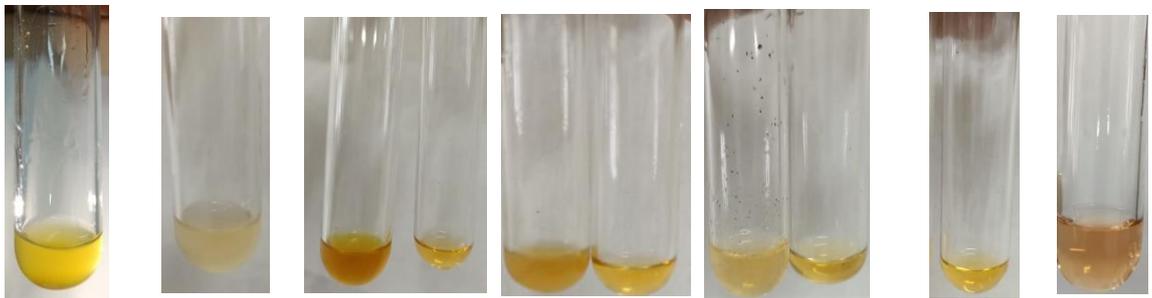
### L.6.3 Uji Fitokimia

#### a. Ekstrak Etanol Buah Lerak



Alkaloid Reagen Dragendroff (+)	Alkaloid Reagen Meyer (+)	Fenol (+)	Tanin(+) )	Flavonoid (+)	Saponin (+)	Steroid (-) /Triterpenoid (+)
---------------------------------------	---------------------------------	--------------	---------------	---------------	----------------	----------------------------------

#### b. Fraksi Etil Asetat Buah Lerak



Alkaloid Reagen Dragendroff (-)	Alkaloid Reagen Meyer (-)	Fenol (+)	Tanin(-)	Flavonoid (+)	Saponin (-)	Steroid (-) /Triterpenoid (+)
---------------------------------------	---------------------------------	--------------	----------	------------------	----------------	----------------------------------

c. Fraksi N-Heksana Buah Lerak



Alkaloid Reagen Dragendr off (-)	Alkaloid Reagen Meyer (- )	Fenol (+)	Tanin(+)	Flavonoi d (-)	Saponi n (-)	Steroid (-) /Triterpeno id (+)
---	-------------------------------------	--------------	----------	-------------------	-----------------	--------------------------------------

L.6.4 Uji Aktivitas Antibakteri



Sterilisasi alat  
dan bahan



Peremajaan  
Bakteri



Pembuatan  
konsentrasi  
ekstrak



Pembuat  
an media  
NA dan  
NB



Pembuat  
an  
inokulu  
m  
bakteri



Mengukur OD



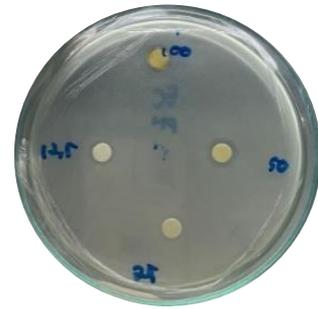
Uji Antibakteri

Hasil Uji Antibakteri terhadap *Escherichia coli*

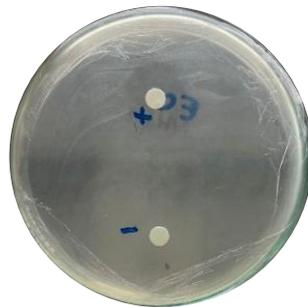
(a) Ekstrak etanol



(b) Fraksi etil asetat



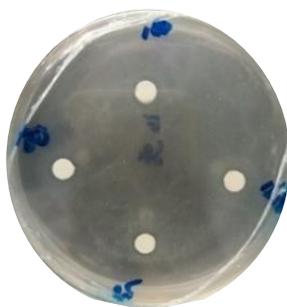
(c) Fraksi n-heksana



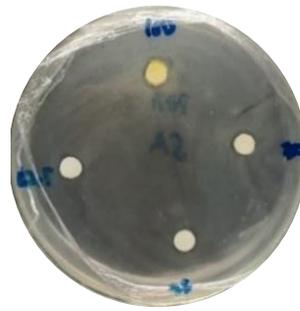
(d) Kontrol positif dan negatif



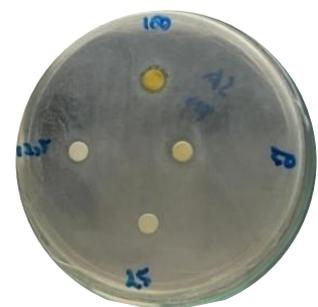
(e) Kontrol pelarut

Hasil Uji Antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*

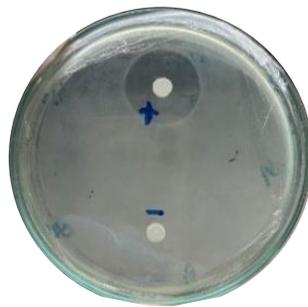
(a) Ekstrak etanol



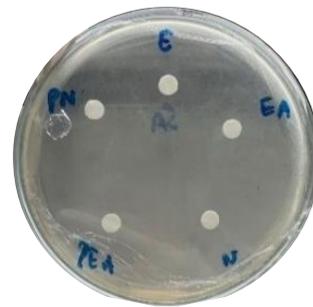
(b) Fraksi etil asetat



(c) Fraksi n-heksana



(d) Kontrol positif dan negatif



(e) Kontrol pelarut